

МИНИСТЕРСТВО ЮСТИЦИИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН
ЦЕНТР СУДЕБНОЙ МЕДИЦИНЫ



Стандартные операционные процедуры
Методика экспертного исследования по определению в биологических
объектах «металлических ядов».

СОСТАВИТЕЛЬ: Жуматаева Г.С. РКП «Центр судебной медицины МЮ РК»,
судебно-медицинский эксперт высшей категории

Астана, 2016 год

ПАСПОРТ МЕТОДИКИ

1. Наименование методики	Методика экспертного исследования по определению в биологических объектах «металлических ядов».
2. Шифр специальности методики	27.1
3. Информация об авторе (ах) (составителе (ях)) методики	Составитель: Жуматаева Г.С.
4. Сущность методики	<p>Сущность метода: По технике выполнения методы минерализации делят на методы «мокрой» минерализации и методы сухого озоления. Методы «мокрой» минерализации выполняют с применением кислот – окислителей и других реагентов. При сухом озолении пробы сжигают или сплавляют с карбонатами, нитратами.</p>
4.1 Экспертные задачи, решаемые методикой	<p>Исследование минерализата проводится дробным методом анализа. Метод проводится по определенной схеме и с применением маскирующих веществ. Обнаружение искомым ионов дробным методом производится в два этапа. Вначале устраняют влияние мешающих ионов с помощью соответствующих реактивов или их смесей, а затем прибавляют реактив, дающий окраску или осадок с искомым ионом.</p>
4.2 Объекты исследования	<p>Выделение и идентификация «металлических» ядов в биологических образцах и других объектах.</p>
4.3 Методы исследования	<p>Основными объектами являются биологические (биожиidкости и органы трупа), технические жидкости, а также пищевые продукты. Волосы и ногти могут быть исследованы при хронических отравлениях.</p> <p>Методы химические (цветные, осадительные, кристаллические реакции), а также хроматографические, колориметрические и спектральные</p>

4.4 Краткое поэтапное описание методики

методы.

- Обнаружение металлических ядов в патологическом материале с помощью экспрессных методов исследования. Метод осадочной хроматографии на бумаге
- Методы разрушения биологического материала
- Денитрация минерализата
- Оценка результата по внешнему виду полученного минерализата
- Маскировка ионов
- Демаскировка
- Количественное определение
- Оценка результатов с учетом норм естественного содержания микроэлементов в организме

5. Дата одобрения методики Ученым Советом ЦСМ МЮ РК

Протокол № 1 от 07 «ноября» 2016г.

6. Информация о лице составившим паспорт методики

Составитель: Жуматаева Г.С. РГКП «Центр судебной медицины МЮ РК», судебно-медицинский эксперт высшей категории

СОДЕРЖАНИЕ

1. Введение	5
2. Область применения	6
3. Термины и обозначения	6
4. Основная часть	7
5. Заключение	50
6. Список использованных источников	50
7. Приложения	51

1. Введение.

При исследовании биологического материала на наличие «металлических ядов» анализу подвергают органы трупов (печень, почки, желудок с содержимым и др.), биологические жидкости (кровь, моча), пищевые продукты и другие объекты.

Количество исследуемого материала, необходимое для каждого анализа, зависит от общей массы объекта, поступившего на исследование, и от обстоятельств дела. Если из материалов дела известно, что умерший после отравления «металлическими ядами» еще жил долгое время, в течение которого вещество, вызвавшее отравление, хотя бы частично могло выделиться из организма, а также при наличии данных о том, что умершим была принята небольшая доза яда, то на исследование по возможности берут большее количество биологического материала. При отсутствии таких данных на исследование берут пробы по 100 г биологического материала.

Каждую пробу биологического материала минерализуют отдельно, не допуская смешивания этих проб. Если на химико-токсикологический анализ поступили относительно большие навески органов трупов или пищевых продуктов, то на исследование можно брать несколько порций каждого объекта (массой по 100 г) и каждую порцию разрушать отдельно. Затем соединять минерализаты, полученные из одного и того же объекта.

Если же на анализ поступают малые количества объектов, то для исследования на наличие «металлических ядов» может быть использован биологический материал, из которого ранее были отогнаны летучие яды с водяным паром. Такой биологический материал содержит большое количество воды, мешающей минерализации. При наличии большого количества воды в объекте трудно создать соответствующую концентрацию кислот-окислителей, необходимых для минерализации. Поэтому перед минерализацией из объектов удаляют основную массу воды упариванием на водяной бане. Так же поступают и с другими объектами (моча), богатыми водой. Их упаривают до небольшого объема, а затем проводят минерализацию находящихся в них органических веществ.

На исследование могут поступать органы трупов, консервированные этиловым спиртом. При минерализации биологического материала, содержащего этиловый спирт, может произойти загорание спирта. Это обстоятельство особенно нужно учитывать при минерализации биологического материала хлорной кислотой и ее смесями с другими кислотами, а также при минерализации биологического материала хлоратом калия $KClO_3$ и соляной кислотой или пергидролем и серной кислотой. К биологическому материалу, консервированному этиловым спиртом, прибавляют раствор карбоната натрия, хорошо перемешивают и на водяной бане, нагретой не выше $50^\circ C$, отгоняют этиловый спирт. После отгонки спирта приступают к минерализации биологического материала.

Меры предосторожности при минерализации. При любом способе минерализации из-за несоблюдения мер предосторожности возможно выбрасывание горячих кислот из колб. В результате этого могут быть поражены глаза, кожа лица и рук или повреждена одежда этими кислотами.

Ввиду возможного взрыва при минерализации биологического материала хлорной кислотой, пергидролем, хлоратом калия требуется особая предосторожность. Поэтому приступать к разрушению биологического материала любым методом можно только после ознакомления со свойствами применяемых кислот.

При разрушении биологического материала по соответствующим методикам необходимо пользоваться защитными очками, предохраняющими глаза от попадания горячих кислот и осколков стекла при взрыве содержимого колб. Разрушение биологического материала необходимо производить в вытяжных шкафах с хорошей тягой.

Приступая к минерализации биологического материала, необходимо убедиться в том, что кислоты и другие, применяемые для этой цели жидкости, не содержат примесей соединений металлов, имеющих токсикологическое значение.

При использовании любых методов минерализации биологического материала недостаточно чистые кислоты-окислители могут загрязнять минерализаты соединениями металлов, которые отсутствовали в исследуемых объектах и не были причиной отравления. Учитывая то, что для каждого метода разрушения биологического материала применяются большие объемы кислот, общее количество примесей металлов в минерализатах может быть значительным. Эти примеси металлов могут быть обнаружены при исследовании минерализатов с помощью соответствующих реакций и послужить основанием для ошибочного заключения о наличии «металлических ядов» в биологическом материале.

Чтобы исключить указанную ошибку при химико-токсикологическом анализе, для минерализации биологического материала необходимо применять кислоты, свободные от примесей соединений металлов, имеющих токсикологическое значение. Если степень чистоты кислот и пергидроля, применяемых для минерализации, неизвестна, то проводят «холостой» опыт. С этой целью кислоты-окислители и другие жидкости (пергидроль и др.) берут в таких количествах, в которых они применяются для минерализации биологического материала, и поступают так, как указано в соответствующих методиках разрушения органических веществ. Только при отрицательных реакциях полученных жидкостей на наличие соединений металлов, имеющих токсикологическое значение, делают вывод о пригодности соответствующих кислот для минерализации биологического материала.

Следует иметь в виду, что незначительные количества некоторых металлов содержатся в организме как нормальная составная часть клеток и тканей, см. Приложение 2.

2. Область применения.

Химико-токсикологическое исследование биологических образцов, других вещественных доказательств с целью установления наличия и концентрации «металлических ядов»

3. Термины и обозначения.

«Металлические яды» - в токсикологической химии называют соединения бария, висмута, кадмия, марганца, меди, ртути, свинца, серебра, таллия, хрома,

цинка и некоторых других металлов и соединения некоторых неметаллов (мышьяка, сурьмы);

Минерализация – процесс разрушения органических веществ;

ААС - Атомно-абсорбционная спектроскопия;

4. Стандартные процедуры.

4.1. Экспрессные методы исследования.

4.1.1. Метод осадочной хроматографии на бумаге

Приготовление реактивов. Раствор дитизона в бензоле: 5 мг дитизона растворяют в 10 мл бензола. Раствор пригоден для работы в течение одного дня.

Фильтровальная бумага, пропитанная раствором тиомочевины. Полоски фильтровальной бумаги размером 5x30 см пропитывают 4%-ным раствором тиомочевины и сушат на воздухе. Такие полоски бумаги можно хранить в плотно закрытой банке 3 мес.

Раствор рубановодородной кислоты. 0,1 г рубановодородной кислоты растворяют в 10 мл ректификованного спирта. Раствор сохраняется 6 дней.

Фильтровальная бумага, пропитанная кремнекислым натрием. Полоски фильтровальной бумаги размером 5x30 см пропитывают 4%-ным раствором кремнекислого натрия и высушивают на воздухе. Хранят в плотно закрытой банке. Срок хранения 1 год.

Йодистая медь: 5,3 г йодистого калия растворяют в 10—15 мл дистиллированной воды, к полученному раствору прибавляют 40 мл 10%-ного раствора сернокислой меди, образующийся осадок отфильтровывают и промывают дистиллированной водой до полного обесцвечивания промывных вод. Фильтр с осадком прокалывают иглой, смывают осадок дистиллированной водой в колбу и доводят до объема 50 мл. Взвесь йодистой меди пригодна для работы в течение 6 мес.

Раствор родизоновокислого натрия. 0,05 г родизоновокислого натрия растворяют в 10 мл дистиллированной воды. Раствор пригоден для работы в течение 3 дней.

Фильтровальная бумага, пропитанная виннокислым натрием: полоски фильтровальной бумаги размером 5x30 см пропитывают 4%-ным раствором виннокислого натрия и сушат на воздухе. Хранят в плотно закрытой банке до 1 г.

Буферный раствор с рН 2,8.

Раствор А: 35,628 г двуметаллического фосфорнокислого натрия ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) растворяют в воде и доводят до 1 л.

Раствор Б: 21,008 г лимонной кислоты растворяют в воде и доводят до 1 л. Для получения буферного раствора с рН 2,8 смешивают 1,58 мл раствора А с 8,42 мл раствора Б. Исходные растворы сохраняют в течение 1 мес.

Бромно-ртутные бумажки: из беззольной фильтровальной бумаги вырезают кружочки по размерам трубки насадки на колбочку прибора Зангера-Блека. Бумажные кружочки пропитывают 5%-ным спиртовым раствором бромной

ртути, сушат на воздухе и хранят в плотно закрытой склянке из темного стекла до 6 мес.

Свинцово-ацетатная вата: гигроскопическую вату пропитывают в 5%-ном растворе уксуснокислого свинца и сушат. Хранят в плотно закрытой склянке до 1 г.

Раствор молибденовокислого аммония: 5 г молибденовокислого аммония растворяют в 100 мл воды, добавив 35 мл азотной кислоты с удельным весом 1,22 (43%-ный раствор). Срок хранения 3 мес.

Раствор уксуснокислого бензида: 0,05 г основного бензида растворяют в 10 мл концентрированной уксусной кислоты (80%) и доводят водой до 100 мл. Срок хранения 10 дней.

В целях ускорения токсикологических исследований при проведении лабораторной диагностики отравлений металлическими ядами (медью, ртутью, цинком, барием и свинцом) разработаны экспрессные (ускоренные) методы обнаружения этих ядов в патологическом материале и других объектах.

Для обнаружения с помощью экспрессных химических методов бария, свинца, цинка, меди и ртути (каждого в отдельности) требуется около 1 ч, включая разрушение патологического материала и других исследуемых объектов, а для исследования на фосфид цинка по фосфору и цинку — 2 ч.

Обнаружение металлических ядов — цинка, меди, бария и свинца — основано на применении метода осадочной хроматографии на бумаге. Цинк определяют по реакции с дитизоном, медь — рубеноводородной кислотой, барий и свинец — родизеновокислым натрием.

Обнаружение ртути проводят с помощью реакции с йодистой медью капельным методом на бумаге.

Метод осадочной хроматографии на бумаге позволяет обнаруживать искомый катион, находящийся в смеси с другими катионами, без выделения его в чистом виде. Присутствие других катионов в количествах, превышающих в 100 раз количество искомого катиона, не мешает его обнаружению методом осадочной хроматографии на бумаге (ртути — капельной реакцией с йодистой медью на бумаге).

4.1.2. Для определения цинка, меди и ртути применяют экспрессный способ неполного разрушения патологического материала концентрированной серной кислотой и пергидролем; для выделения бария и свинца применяют способ разрушения патологического материала концентрированной соляной кислотой и хлоратом калия. В обоих случаях разрушение навески (20—25 г) патологического материала для получения минерализата проводят за 30—40 мин.

Подготовка материала для исследования. Из патологического материала (содержимое желудка, кишечника со стенками, кусочки паренхиматозных органов, рвотные массы) отделяют 20—25 г для исследования на медь, ртуть и цинк, часть материала сохраняют для исследования на барий и свинец, на другие яды и для контроля. Если материал был консервирован спиртом или содержит много воды (рвотные массы), то пробу помещают в фарфоровую чашку и подсушивают на кипящей водяной бане (для удаления избытка воды).

Для исследования на цинк, ртуть и медь разрушение материала проводят концентрированной серной кислотой и пергидролем. 20—25 г патологического материала помещают в колбу Кьельдаля объемом 250—300 мл, заливают 10—12,5 мл пергидроля, 1—2 мин перемешивают и прибавляют 6—7 мл концентрированной серной кислоты. Содержимое колбы разогревается и наступает бурная реакция. Когда реакция затихнет, колбу осторожно нагревают на электроплитке и прибавляют по 1—2 мл пергидроля до тех пор, пока содержимое колбы делается прозрачным (полного разрушения органического материала при этом не происходит — остаются неразрушенными жир и продукты распада белков). Для разрушения 20—25 г материала требуется примерно 25—40 мин.

4.1.3. Для исследования на барий и свинец разрушение патологического материала проводят концентрированной соляной кислотой и хлоратом калия (бертолетовой солью), чтобы избежать образования труднорастворимых сернокислых солей бария и свинца, выпадающих в осадок. Навеску материала в 20—25 г помещают в колбу Кьельдаля, заливают концентрированной соляной кислотой, нагревают и прибавляют небольшими порциями хлорат калия, пока жидкость не станет прозрачной. Разрушение 20—25 г материала происходит в течение 30—40 мин.

4.2. Обнаружение цинка. Часть минерализата (1—2 мл) разбавляют 1:1 дистиллированной водой, берут 2—3 капли и нейтрализуют концентрированным аммиаком (по лакмусу), одну каплю нейтрализованного раствора наносят на полоску фильтровальной бумаги, пропитанной тиомочевинной и высушенной, и держат 1 мин над горлом склянки с концентрированным аммиаком, высушивают на воздухе и опрыскивают из пульверизатора раствором дитизона в бензоле. При наличии цинка на бумаге появляется пятно розовато-красного или красно-малинового цвета. В контрольном опыте вместо минерализата берут дистиллированную воду и проделывают все операции основного опыта. Пятно на бумаге не должно окрашиваться в розовый или красно-малиновый цвет. Нормально присутствующий в органах цинк при этих условиях не обнаруживается.

4.3. Обнаружение меди. 2—3 капли минерализата нейтрализуют концентрированным раствором аммиака, каплю нейтрализованного раствора наносят на полоску фильтровальной бумаги, пропитанной раствором кремнекислого натрия и высушенной, держат над горлом склянки с концентрированным аммиаком, подсушивают и опрыскивают из пульверизатора раствором рубсановодородной кислоты. В присутствии меди пятно окрашивается в темно-зеленый цвет. В случае сомнительной реакции на медь с целью повышения чувствительности метода следует взять 3—5 мл минерализата и выпарить в фарфоровой или кварцевой чашке на электроплитке с добавлением нескольких капель пергидроля для обесцвечивания темнеющей жидкости и проделать реакцию на медь, как указано выше.

4.4. Обнаружение ртути. На беззольную фильтровальную бумагу наносят каплю взвеси йодистой меди, выжидают 2—3 мин и наносят на это место

каплю минерализата. В присутствии ртути появляется красное или красно-оранжевое окрашивание.

Реакция высокочувствительная, ею можно обнаруживать 0,25 мкг ртути в одной капле.

4.5. Обнаружение бария. 3—5 капель минерализата нейтрализуют концентрированным аммиаком, одну каплю жидкости наносят на полоску фильтровальной бумаги, пропитанную 4%-ным раствором виннокислого натрия и высушенной, подсушивают на воздухе и опрыскивают из пульверизатора раствором родизоната натрия, а затем буферным раствором с рН 2,8. В присутствии бария пятно окрашивается в оранжево-красный цвет. Присутствие в минерализате цинка, меди, ртути и железа в 100-кратном количестве по отношению к барию не мешает его обнаружению этим методом. Для дифференциации бария от свинца на оранжево-красное пятно от родизоновокислого бария наносят каплю 10%-ного раствора сернокислого натрия, оранжево-красная окраска исчезает; если же присутствует свинец, окраска пятна не меняется.

4.6. Обнаружение свинца. Каплю горячего минерализата (при охлаждении минерализата хлористый свинец выпадает в осадок) наносят на полоску бумаги, пропитанной 4%-ным раствором виннокислого натрия и высушенной, держат над горлом склянки с раствором крепкого аммиака до полной нейтрализации соляной кислоты, подсушивают и опрыскивают из пульверизатора раствором родизоната натрия, а затем буферным раствором с рН 2,8. В присутствии свинца пятно окрашивается в фиолетовый цвет, а при незначительном количестве свинца — в красно-оранжевый.

Для дифференциации бария от свинца на оранжево-красное пятно, образовавшееся от родизоновокислого бария, наносят каплю 10%-ного раствора сульфата натрия. Оранжево-красная окраска исчезает. Если же присутствует свинец, цвет пятна не меняется.

4.7. Полный химико-токсикологический анализ на «металлические яды»

При проведении химико-токсикологического анализа эксперт может использовать любые из описанных методик исследования в зависимости от наименований представленных образцов их количества, с учётом фазы распределения искомого вещества.

4.7.1. РАЗРУШЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА АЗОТНОЙ И СЕРНОЙ КИСЛОТАМИ

Сущность метода. Метод разрушения биологического материала азотной и серной кислотами является основным методом, применяемым в химико-токсикологических лабораториях.

В начале минерализации концентрированная серная кислота играет роль водоотнимающего средства. Ее роль как водоотнимающего средства усиливается с повышением температуры. Благодаря водоотнимающему действию концентрированная серная кислота нарушает структуру клеток и тканей биологического материала. При повышении температуры (выше 110°C) и концентрации (до 60—70 %) серной кислоты она проявляет окислительные свойства и разлагается с выделением оксида серы (IV). При использовании метода минерализации биологического материала азотной и серной кислотами

получаются относительно небольшие объемы минерализатов. Это обстоятельство оказывает влияние на чувствительность методов обнаружения «металлических ядов» в минерализатах.

Этот метод непригоден для изолирования ртути из биологического материала, так как значительные количества ее улетучиваются при нагревании биологического материала с серной и азотной кислотами.

Выполнение минерализации. В колбу Кьельдаля вместимостью 500—800 мл вносят 100 г измельченного биологического материала, прибавляют 75 мл смеси, состоящей из равных объемов концентрированных азотной и серной кислот и воды. Колбу с содержимым в вертикальном положении закрепляют в штативе так, чтобы дно ее находилось над асбестированной сеткой на расстоянии 1—2 см. Над колбой Кьельдаля в штативе закрепляют делительную воронку, в которой содержится концентрированная азотная кислота, разбавленная равным объемом воды. После этого начинают осторожно нагревать колбу. В течение 30—40 мин происходит деструкция биологического материала. При этом прозрачная жидкость в колбе приобретает желтую или бурю окраску. Затем колбу Кьельдаля с содержимым опускают на асбестированную сетку и усиливают нагревание. Для разрушения органических веществ, находящихся в колбе, из капельной воронки по каплям прибавляют концентрированную азотную кислоту, разбавленную равным объемом воды. Прибавление азотной кислоты регулируют так, чтобы из колбы не выделялись бурые пары оксидов азота. Минерализация считается законченной тогда, когда прозрачная жидкость (минерализат) при нагревании без добавления азотной кислоты перестанет темнеть, а над жидкостью будут выделяться белые пары серной кислоты. Полученный минерализат охлаждают, прибавляют 10—15 мл дистиллированной воды и нагревают до 110—130°C, а затем осторожно по каплям (избегая избытка) прибавляют формалин. При этом отмечается обильное выделение бурых (иногда оранжевых) паров. После окончания выделения этих паров жидкость еще нагревают 5—10 мин, а затем 1—2 капли охлажденной жидкости (минерализата) наносят на предметное стекло или на фарфоровую пластинку и прибавляют каплю раствора дифениламина в серной кислоте. Отрицательная реакция минерализата с дифениламином на азотную, азотистую кислоты, а также на оксиды азота указывает на окончание процесса денитрации. При положительной реакции минерализата с дифениламином денитрацию проводят повторно.

4.7.2. РАЗРУШЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ХЛОРНОЙ, АЗОТНОЙ И СЕРНОЙ КИСЛОТАМИ

Этим методом достигается почти полное разрушение биологического материала и в 2—3 раза сокращается время разрушения по сравнению со временем, необходимым для минерализации объектов биологического происхождения азотной и серной кислотами. После разрушения биологического материала с помощью хлорной, азотной и серной кислот получают относительно небольшие объемы минерализатов, что повышает чувствительность этого метода.

Несмотря на указанные выше достоинства метода разрушения биологического материала смесью хлорной, азотной и серной кислот, при использовании этого

метода требуется особая предосторожность ввиду взрывоопасности хлорной кислоты. Этот метод непригоден для разрушения биологического материала, подлежащего исследованию на наличие ртути, которая улетучивается в процессе минерализации.

Выполнение минерализации. В колбу Кьельдаля вместимостью 500 мл вносят тщательно измельченный биологический материал, прибавляют по 25 мл концентрированной азотной и серной кислот и 35 мл 37 %-го или 42 %-го раствора хлорной кислоты. Колбу с содержимым устанавливают на асбестированную сетку и постепенно усиливают нагревание колбы. При нагревании может происходить обугливание, о чем свидетельствует почернение содержимого колбы. В этом случае в колбу по каплям прибавляют концентрированную азотную кислоту. Если и при этом будет продолжаться обугливание и над жидкостью будут появляться пары ангидрида хлорной кислоты Cl_2O_7 , то прекращают или ослабляют нагревание колбы. Окисление биологического материала продолжают прибавлением по каплям 35—45 %-го раствора азотной кислоты. Когда жидкость в колбе станет прозрачной, тогда прекращают нагревание и проверяют полноту окисления органических веществ в минерализате. С этой целью к капле охлажденного, разбавленного водой минерализата, прибавляют 25 %-й раствор аммиака. Появление слабо-желтой окраски свидетельствует об окончании процесса минерализации.

Оценка результата. Появление оранжевой окраски указывает на наличие в минерализате некоторых еще не разрушенных аминокислот (фенилаланин, тирозин, триптофан и др.).

4.7.3. РАЗРУШЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ПЕРГИДРОЛЕМ И СЕРНОЙ КИСЛОТОЙ

Сущность метода. Метод разрушения биологического материала пергидролем и серной кислотой в химико-токсикологическом анализе может быть использован при исследовании малых навесок объектов биологического происхождения, поступивших на исследование.

Выполнение минерализации. Исследуемый объект по возможности освобождают от воды выпариванием, измельчают и вносят в фарфоровую чашку, в которую небольшими порциями (при помешивании стеклянной палочкой) прибавляют пятикратное количество концентрированной серной кислоты (плотность 1,86) и нагревают на водяной бане. При этом происходит обугливание исследуемого объекта с выделением оксида углерода (IV). После заметного уменьшения скорости выделения оксида углерода (IV) содержимое фарфоровой чашки количественно переносят в колбу Кьельдаля, которую устанавливают на асбестированную сетку. При слабом нагревании колбы в нее вносят небольшими порциями пергидроль. Прибавление новых небольших порций пергидроля производят до тех пор, пока жидкость не станет бесцветной или слегка желтоватой от наличия солей железа. После этого колбу с жидкостью охлаждают, а содержимое разбавляют десятикратным количеством воды.

Для удаления избытка пергидроля в колбу Кьельдаля небольшими порциями прибавляют насыщенный водный раствор сульфита натрия и кипятят в течение 5—10 мин. Вместо сульфита натрия для связывания избытка пергидроля можно

прибавлять раствор сульфата гидразина. Минерализат, освобожденный от избытка пергидроля, используют для обнаружения «металлических ядов». Для обнаружения и количественного определения «металлических ядов» используются минерализаты, полученные после разрушения биологического материала, содержащего эти яды. Обнаружению ионов исследуемых металлов могут мешать ионы других элементов, в том числе и элементов, содержащихся в биологическом материале как естественная составная часть тканей и жидкостей организма. В химико-токсикологическом анализе для обнаружения ионов металлов в минерализатах применяется дробный метод.

Оценка результата по внешнему виду полученного минерализата по любому из трёх описанных методик проведения минерализации. Минерализат, содержащий большинство катионов металлов, будет бесцветным. В минерализате могут быть катионы меди и хрома. В этом случае минерализат будет окрашен соответственно в синий или зеленый цвет. Если в биологическом материале содержались барий и свинец, то в минерализате будут осадки сульфатов этих металлов. При отсутствии мути или осадка в минерализате исследование на наличие ионов бария и свинца не проводится. В заключении делаются выводы об отсутствии солей бария и свинца.

4.7.4. ДРОБНЫЙ МЕТОД АНАЛИЗА «МЕТАЛЛИЧЕСКИХ ЯДОВ»

При проведении качественных реакций используется контрольный минерализат в качестве «холостого» опыта, а также контрольный опыт с растворами искомых веществ в концентрации близкой к наименьшей токсичной дозы.

Сущность метода. Дробный метод основан на применении реакций, с помощью которых в любой последовательности можно обнаружить искомые ионы в отдельных небольших порциях исследуемого раствора. Пользуясь дробным методом, отпадает необходимость выделения исследуемых ионов из растворов. Для обнаружения соответствующих ионов дробным методом необходимо применять специфические реактивы, позволяющие обнаружить искомый ион в присутствии посторонних ионов. Однако не всегда можно подобрать специфические реакции для обнаружения искомых ионов. В этих случаях в дробном анализе пользуются специальным приемом (маскировкой), с помощью которого устраняется влияние мешающих ионов.

Обнаружение искомых ионов дробным методом производится в два этапа. Вначале устраняют влияние мешающих ионов с помощью соответствующих реактивов или их смесей, а затем прибавляют реактив, дающий окраску или осадок с искомым ионом.

4.7.4.1. МАСКИРОВКА ИОНОВ В ДРОБНОМ АНАЛИЗЕ

Сущность метода. Маскировкой называется процесс устранения влияния мешающих ионов, находящихся в сложной смеси, на обнаружение искомых ионов. При маскировке мешающие ионы переводят в соединения или в другие ионы, которые теряют способность реагировать с реактивами на искомые ионы. Существует несколько способов маскировки ионов. С целью маскировки мешающие ионы переводят в устойчивые комплексы, изменяют валентность

этих ионов при помощи окислителей или восстановителей, изменяют рН среды и т. д.

Основным способом маскировки мешающих ионов, который применяется в аналитической химии и в химико-токсикологическом анализе, является комплексообразование. Пользуясь этим способом, для маскировки подбирают такой реактив, который с мешающими ионами образует бесцветные прочные комплексные ионы, не способные реагировать с реактивами на искомые ионы. Использование комплексообразования для маскировки ионов можно показать на нескольких примерах.

Для обнаружения ионов Co^{2+} применяют роданид аммония. При этом образуется соединение $(\text{NH}_4)_2[\text{Co}(\text{SCN})_4]$, имеющее синюю окраску. Обнаружению ионов Co^{2+} роданидом аммония мешают ионы железа (III), которые с этим реактивом дают кроваво-красную окраску. Для устранения мешающего влияния ионов железа (III) к смеси, содержащей ионы кобальта и железа, прибавляют растворы фторидов или фосфатов, которые переводят ионы железа (III) в бесцветный комплекс $[\text{FeF}_6]^{3-}$, не реагирующий с роданидом аммония. Таким образом, после маскировки ионов железа (III) фторидами или фосфатами можно легко обнаружить ионы кобальта, находящиеся в смеси с ионами железа, используя роданид аммония.

Обнаружению ионов кадмия реакцией с сероводородом (образуется желтый осадок CdS) мешают ионы меди, которые с этим реактивом дают черный осадок CuS . Для маскировки ионов меди прибавляют растворы цианидов, образующие с указанными ионами бесцветный комплекс $[\text{Cu}(\text{CN})_4]^{3-}$, не реагирующий с сероводородом.

4.7.4.2. Демаскировка ионов.

Демаскировкой называют процесс освобождения ранее замаскированных ионов от маскирующих реактивов. В результате демаскировки ранее замаскированные ионы восстанавливают способность вступать в реакции с соответствующими реактивами. Демаскировка в основном осуществляется разложением комплексных ионов, которые ранее образовались в процессе маскировки.

ОБНАРУЖЕНИЕ ИОНОВ МЕТАЛЛОВ

4.8.1. ОБНАРУЖЕНИЕ СОЕДИНЕНИЙ БАРИЯ

Применение и токсичность соединений бария. Из соединений бария токсикологическое значение имеют его гидроксид, хлорид, нитрат, карбонат, хлорат и др.

Растворимые соединения бария, поступившие в организм через пищевой канал, всасываются в желудке и вызывают отравление.

Проникновению в кровь растворимых в воде соединений бария препятствуют находящиеся в желудке сульфаты некоторых металлов. При этом образуется нерастворимый сульфат бария, не проникающий в кровь из желудка.

Соединения бария раздражают слизистые оболочки пищевого канала. При отравлениях соединениями бария может наступить перерождение печени. Смерть от соединений бария наступает в результате сердечно-сосудистой недостаточности. Патологоанатомическая картина отравлений барием не характерна.

Соединения бария выделяются из организма главным образом через кишки. Следы этих соединений выводятся через почки и частично откладываются в костях. Сведения о содержании бария как нормальной составной части клеток и тканей организма в литературе отсутствуют.

4.8.2. Исследование минерализатов на наличие бария

В химико-токсикологическом анализе для обнаружения соединений бария используется осадок $BaSO_4$, который может быть в минерализатах, полученных после разрушения биологического материала смесью серной и азотной кислот или смесью серной, азотной и хлорной кислот. Кроме осадка сульфата бария в минерализате может быть и осадок сульфата свинца. В ряде случаев осадки сульфатов бария и свинца могут быть загрязнены небольшим количеством ионов железа, меди, цинка, кадмия, олова, хрома и др. Эти примеси можно удалить из осадков промыванием их серной кислотой и водой. При наличии в осадке примесей ионов олова их удаляют промыванием осадка соляной кислотой.

4.8.2.1. Исследование осадка сульфата бария. производят после отделения его от осадка сульфата свинца. Для разделения этих осадков их обрабатывают горячим раствором ацетата аммония, подкисленным уксусной кислотой. Для приготовления этого раствора берут 50 мл насыщенного раствора ацетата аммония, прибавляют 3 мл ледяной уксусной кислоты и 47 мл воды.

Осадок смеси сульфатов бария и свинца промывают 15—20 мл 0,2 н. раствора серной кислоты, а затем 10 мл воды. Промытый осадок на фильтре 2—3 раза обрабатывают горячим раствором ацетата аммония, подкисленным уксусной кислотой. При этом осадок сульфата бария остается на фильтре, а осадок сульфата свинца переходит в раствор.

В зависимости от величины осадка для растворения сульфата свинца берут 5—6 мл раствора ацетата аммония. При малых количествах осадка используется 1—2 мл указанного раствора.

Оставшийся на фильтре осадок используют для исследования его на наличие бария. С этой целью производят перекристаллизацию этого осадка в концентрированной серной кислоте, переводят указанный осадок в сульфид бария, а затем в иодат бария.

Перекристаллизация осадка сульфата бария. Часть исследуемого осадка наносят на предметное стекло и слегка подсушивают. Затем к осадку прибавляют 2—3 капли концентрированной серной кислоты и нагревают до появления белых паров. При нагревании серная кислота не должна растекаться на предметном стекле. Если в осадке находится сульфат бария, то через 10—20 мин после охлаждения смеси на предметном стекле появляются бесцветные кристаллы, имеющие форму прямоугольников с вытянутыми углами или форму линз, собранных в виде крестов. Предел обнаружения: 0,05 мкг бария.

Реакция восстановления сульфата бария. На предметное стекло наносят несколько капель 5 н. раствора соляной кислоты. Затем с помощью платиновой петли забирают часть исследуемого осадка и нагревают его в восстановительной части пламени газовой или спиртовой горелки. При этом сульфат бария восстанавливается и образуется сульфид бария BaS . В результате этого пламя горелки окрашивается в зеленый цвет. Нагретую платиновую

петлю с осадком время, от времени опускают на несколько секунд в раствор соляной кислоты, находящейся на предметном стекле. Нагревание платиновой петли с осадком и смачивание его в соляной кислоте производят до тех пор, пока не наступит ослабление интенсивности окрашивания пламени. После этого в соляную кислоту, находящуюся на предметном стекле, опускают кристаллик иодата калия KIO_3 . При этом образуются кристаллы иодата бария: Оценка результата. Окрашивание пламени горелки в зеленый цвет и появление на предметном стекле бесцветных призматических кристаллов иодата бария, собранных в виде сфероидов, указывает на наличие бария в исследуемом осадке. Предел обнаружения: 0,03 мкг бария в пробе.

Оценка результата двух проб. При отрицательных результатах двух описанных выше проб на наличие бария дается заключение об отсутствии в пробах ионов бария. При положительном результате проводится дальнейшее исследование.

4.8.2.2. Обнаружение ионов бария в его соединениях

Объектами исследования на наличие бария могут быть не только органы трупов и биологические жидкости, но и химические соединения этого металла, которые в народном хозяйстве широко используются для борьбы с вредителями сельскохозяйственных культур и для других целей.

Реакция с хроматом калия. При взаимодействии ионов бария с хроматами образуется, светло-желтый осадок хромата бария, растворимый в минеральных кислотах и нерастворимый в уксусной кислоте. Осадок хромата бария образуется и при взаимодействии ионов бария с дихроматами:

В связи с растворимостью осадка хромата бария в минеральных кислотах прибавляют ацетат натрия:

Образовавшаяся при этой реакции уксусная кислота не растворяет осадка хромата бария. Ионы стронция не мешают этой реакции, так как осадок хромата стронция растворяется в минеральных и уксусной кислотах.

Реакция с серной кислотой.

Выполнение реакции. На фильтровальную бумагу наносят каплю нейтрального или слегка кислого раствора анализируемого вещества и прибавляют каплю 0,2 %-го водного раствора родизоната натрия. При этом на бумаге появляется интенсивное пятно красновато-коричневого цвета.

Оценка результатов. От прибавления капли разбавленной соляной кислоты пятно родизоната бария приобретает ярко-красную окраску, а красновато-коричневое пятно родизоната стронция исчезает. Предел обнаружения: 0,25 мкг бария в пробе.

4.9. СОЕДИНЕНИЯ СВИНЦА

Отмечены случаи бытовых отравлений свинцом, имеющие место при употреблении консервов, изготовленных в недоброкачественно луженой и эмалированной посуде. В промышленных предприятиях, использующих металлический свинец, а также в шахтах, в которых получают свинцовые руды, при недостаточно обеспеченной технике безопасности и охране труда могут быть отравления парами свинца и вдыхаемой пылью. Однако основным источником отравлений соединениями свинца является поступление их в пищевой канал.

Ионы свинца, поступившие в организм, соединяются с сульфгидрильными и другими функциональными группами ферментов и некоторых других жизненно важных белковых соединений. Соединения свинца тормозят синтез порфирина, вызывают нарушение функций центральной и периферической нервной системы. Около 90 % ионов свинца, поступивших в кровь, связываются эритроцитами (по Р. Лудевигу и К. Лосу, 1983).

Соединения свинца выделяются из организма главным образом с калом. Меньшие количества этих соединений выделяются с желчью, а следы — с мочой. Соединения свинца частично откладываются в костной ткани в виде трехзамещенного фосфата. Следует иметь в виду, что незначительные количества свинца содержатся в организме как нормальная составная часть клеток и тканей.

4.9.1. Исследование минерализатов на наличие свинца

После разрушения биологического материала смесью серной и азотной кислот свинец выпадает в минерализате в виде белого осадка сульфата свинца. Такого же цвета осадок сульфата бария образуется при отравлении соединениями бария. В результате соосаждения осадки сульфатов свинца и бария могут быть загрязнены ионами кальция, хрома, железа и др. При наличии хрома в осадке он имеет грязно-зеленую окраску. Для освобождения осадков сульфатов свинца и бария от примесей эти осадки промывают серной кислотой и водой, а затем осадок сульфата свинца растворяют в подкисленном растворе ацетата аммония:

Ход анализа на наличие свинца зависит от величины осадков, находящихся в минерализатах.

4.9.2. Исследование относительно больших осадков сульфата свинца

При наличии больших осадков сульфата свинца (свыше 2 мг этого вещества) их отделяют от минерализата путем фильтрования или центрифугирования. Отфильтрованный осадок промывают 15—20 мл 0,2 н. раствора серной кислоты, а затем 10 мл воды. После этого осадок на фильтре 3 раза обрабатывают горячим подкисленным раствором ацетата аммония и поступают так, как описано выше. При обработке осадков сульфатов свинца и бария подкисленным раствором ацетата аммония осадок сульфата бария останется на фильтре, а образовавшийся ацетат свинца переходит в фильтрат.

Раствор, содержащий ацетат свинца, доводят до $\text{pH} = 5$ (по универсальному индикатору) с помощью 10 %-го раствора аммиака и в полученном растворе определяют наличие ионов свинца при помощи реакций с иодидом калия, хроматом калия, сероводородной водой и серной кислотой.

Реакция с иодидом калия. В пробирку вносят 0,5 мл исследуемого раствора и несколько капель 5 %-го раствора иодида калия.

Оценка результатов. При наличии ионов свинца выпадает желтый осадок PbI_2 , который растворяется при нагревании и вновь появляется в виде желтых пластинок при охлаждении раствора. При выполнении этой реакции следует избегать избытка реактива, в котором растворяется иодид свинца и образуется $\text{K}_2[\text{PbI}_4]$. Предел обнаружения: 60 мкг свинца в пробе.

Реакция с хроматом калия. К 0,5 мл исследуемого раствора прибавляют 3—5 капель 5%-го раствора хромата калия.

Оценка результатов. Образование оранжево-желтого осадка хромата бария указывает на наличие ионов свинца в растворе. Предел обнаружения: 2 мкг свинца в пробе.

Оценка результата двух проб. При отрицательных результатах двух описанных выше проб на наличие свинца дается заключение об отсутствии в пробах ионов свинца. При положительном результате проводится дальнейшее исследование.

Реакция с сероводородной водой. К 0,5 мл исследуемого раствора прибавляют 3—5 капель свежеприготовленной сероводородной воды.

Оценка результатов. Появление черного осадка сульфида свинца (или мути) указывает на наличие ионов свинца в растворе. Предел обнаружения: 6 мкг свинца в пробе.

Реакция с серной кислотой. 0,5 мл исследуемого раствора вносят в пробирку и прибавляют 5 капель 10 %-го раствора серной кислоты.

Оценка результатов. Появление белого осадка указывает на наличие ионов свинца в растворе. Предел обнаружения: 0,2 мг ионов свинца в пробе.

4.9.3. Исследование малых осадков сульфата свинца

При наличии в минерализате небольшого белого осадка (до 2 мг свинца) его отделяют от жидкости фильтрованием или центрифугированием. Осадок промывают 15—20 мл 0,2 н. раствора серной кислоты, а затем 10 мл воды. Промытый осадок 2—3 раза обрабатывают горячим подкисленным раствором ацетата аммония. Общий объем употребляемого при этом раствора ацетата аммония не должен превышать 2 мл. При обработке осадка раствором ацетата аммония растворяется сульфат свинца (образуется ацетат свинца), а осадок сульфата бария остается на фильтре.

Выделение ионов свинца из минерализата. К раствору, содержащему ацетат свинца, прибавляют хлороформный раствор дитизона и взбалтывают. При этом образуется однозамещенный дитизонат свинца $Pb(HDz)_2$, хлороформный раствор которого имеет оранжево-красную окраску:

Для маскировки мешающих ионов прибавляют цианид калия (осторожно — яд!) или гидроксилламин. Образовавшийся в хлороформной фазе однозамещенный дитизонат свинца разлагают азотной кислотой. При этом образуется нитрат свинца, который переходит в водную фазу, а дитизон остается в хлороформе, окрашивая его в зеленый цвет. В водной фазе (резкстракте) определяют наличие ионов свинца с помощью реакций с хлоридом цезия, ацетатом меди и др.

Переведение ионов свинца в дитизонат и разложение дитизоната азотной кислотой производится таким образом: исследуемый раствор, содержащий ацетат свинца, вносят в делительную воронку, прибавляют 1 мл 10 %-го раствора гидроксиламина гидрохлорида (но не сульфата) и 3 н. раствор аммиака до $pH = 8$ (по универсальному индикатору). После этого в делительную воронку вносят 3 мл хлороформа, несколько капель 0,01 %-го раствора дитизона в хлороформе (см. Приложение 1, реактив 12) и взбалтывают. При наличии ионов свинца в исследуемом растворе зеленая окраска хлороформного слоя переходит в красную или в оранжево-красную

(образуется дитизонат). Хлороформный слой отделяют от водной фазы, к которой снова прибавляют 3 мл хлороформа и несколько капель 0,01 %-го раствора дитизона в хлороформе. Содержимое делительной воронки взбалтывают, а затем отделяют хлороформный слой. Взбалтывание водной фазы с новыми порциями хлороформа (по 3 мл) и 0,01 %-м раствором дитизона проводят до тех пор, пока хлороформный слой не перестанет изменять зеленую окраску на красную или оранжево-красную.

Окрашенные хлороформные вытяжки, содержащие дитизонат свинца, соединяют и переносят в делительную воронку, в которую для промывания этих вытяжек прибавляют 10 мл смеси, состоящей из равных объемов 0,5 %-го раствора цианида калия и 0,3 н. раствора аммиака, а затем взбалтывают. При наличии ионов свинца хлороформный слой сохраняет оранжево-красную окраску.

Для подтверждения наличия дитизоната свинца в хлороформном слое его отделяют от водной фазы и переносят в делительную воронку, в которую прибавляют 2 мл 1 н. раствора азотной кислоты и взбалтывают. При этом в водную фазу (реакт) переходят ионы свинца, а дитизон остается в хлороформном слое, окрашивая его в зеленый цвет. От хлороформного слоя отделяют водную фазу и определяют в ней наличие ионов свинца при помощи описанных ниже реакций.

Реакция с хлоридом цезия и иодидом калия. На предметное стекло наносят 4—5 капель водной фазы, которую выпаривают на небольшом пламени. На сухой остаток наносят 2—3 капли 30 %-го раствора уксусной кислоты. С одного края жидкости помещают 2—3 кристаллика хлорида цезия, а с противоположного — несколько кристалликов иодида калия.

Оценка результатов. При наличии ионов свинца образуются желто-зеленые игольчатые кристаллы, собранные в виде сфероидов. Предел обнаружения: 0,01 мкг свинца в пробе.

Реакция с ацетатом меди и нитритом калия. На предметное стекло наносят несколько капель водной фазы, которую на небольшом пламени выпаривают досуха. На сухой остаток наносят 1—2 капли 1 %-го раствора ацетата меди и выпаривают досуха. К сухому остатку прибавляют 2—3 капли 30 %-го раствора уксусной кислоты, а затем на край жидкости вносят несколько кристалликов нитрита калия.

Оценка результатов. Образование черных или коричневых кристалликов, имеющих форму куба, указывает на наличие ионов свинца в водной фазе. Предел обнаружения: 0,01 мкг свинца в пробе.

Оценка результата двух проб. При отрицательных результатах двух описанных выше проб на наличие свинца дается заключение об отсутствии в пробах ионов свинца. При положительном результате проводится дальнейшее исследование.

Реакции образования осадков. Оставшуюся водную фазу используют для обнаружения ионов свинца при помощи реакций образования осадков с иодидом калия, хроматом калия, сероводородной водой и серной кислотой. Выполнение этих реакций описано выше.

4.10. СОЕДИНЕНИЯ ВИСМУТА

Применение и токсичность соединений висмута. Отравление висмутом может наступить после приема его соединений внутрь и при вдыхании пыли, содержащей этот металл. Некоторые соединения висмута применяются в медицине (основной нитрат висмута, салицилат висмута и др.). Они применяются для приготовления мазей, косметических средств и т. д. Висмут входит в состав некоторых препаратов, применяемых в медицине для лечения сифилиса и ряда других заболеваний. Некоторые соединения висмута применяются в химических лабораториях в качестве реактивов.

Ионы висмута, всосавшиеся в кровь, долгое время задерживаются в организме (в печени, почках, селезенке, легких и ткани мозга).

Висмут выводится из организма через почки, кишки, потовые железы и др. В результате накопления висмута в почках возможно их поражение. При выделении висмута из организма потовыми железами может быть зуд кожи и появление дерматозов.

Данные о наличии висмута как нормальной составной части клеток и тканей организма в литературе не приводятся.

4.10.1. Исследование минерализатов на наличие висмута

4.10.1.1. Предварительные реакции

Реакция с тиомочевинной. Выполнение реакции. В пробирку вносят 5 мл минерализата и прибавляют 3—5 мл насыщенного водного раствора тиомочевинной. При наличии ионов висмута раствор приобретает лимонно-желтую окраску. Предел обнаружения: 0,4 мкг висмута в пробе. Граница обнаружения: 0,1 мг висмута в 100 г биологического материала.

Реакция с оксином. Для маскировки мешающих ионов к смеси реагирующих веществ добавляют аскорбиновую кислоту, которая восстанавливает ионы железа (III), и сегнетовую соль, связывающую другие ионы, мешающие обнаружению висмута.

Выполнение реакции. В пробирку вносят 10 мл минерализата, прибавляют по 0,5 г аскорбиновой кислоты, сегнетовой соли и иодида калия. При этом появляется интенсивно-желтая окраска (образуется иодвисмутат), которая не должна переходить в синюю от прибавления капли раствора крахмала. При появлении синей окраски к смеси реагирующих веществ по каплям прибавляют 10 %-й раствор тиосульфата натрия до исчезновения этой окраски. После этого по стенкам пробирки к смеси, имеющей желтую окраску, осторожно прибавляют 1—2 мл 2 %-го раствора оксина в 2 н. соляной кислоте. На границе соприкосновения раствора оксина и находящейся в пробирке жидкости через 1—2 мин появляется оранжево-желтый осадок иодвисмутата оксина.

Оценка результата реакции. Если в исследуемой пробе содержится незначительное количество ионов висмута, то указанный осадок может появиться только через 30—60 мин. Поэтому, не дожидаясь образования осадка, содержимое пробирки переносят в делительную воронку, в которую прибавляют 3 мл смеси равных объемов ацетона и амилацетата, а затем взбалтывают. При наличии ионов висмута в минерализате слой органических растворителей (ацетон—амилацетат) приобретает оранжево-розовую окраску. Предел обнаружения: 5 мкг висмута в пробе. Граница обнаружения: 0,1 мг висмута в 100 г биологического материала.

Оценка результатов предварительных реакций. Отрицательный результат этих реакций указывает на отсутствие ионов висмута в минерализате. При положительном результате указанных выше реакций производят дальнейшее исследование минерализата на наличие ионов висмута. С этой целью ионы висмута выделяют из минерализата в виде комплекса с диэтилдитиокарбаминатом натрия.

Этот комплекс экстрагируют хлороформом, а затем разлагают кислотой.

4.10.1.2. Выделение ионов висмута из минерализата.

В делительную воронку вносят 10 мл минерализата, 0,1 г комплексона III и несколько капель 0,1 %-го спиртового раствора нильского голубого (см. Приложение 1, реактив 24), являющегося индикатором. К этой смеси прибавляют 3 н. раствор гидроксида натрия до $pH=12$ (до перехода синей окраски индикатора в розовую). После доведения содержимого делительной воронки до необходимого pH к жидкости еще прибавляют 2—3 мл 3 н. раствора гидроксида натрия, а затем в делительную воронку вносят 3 мл 1 %-го раствора диэтилдитиокарбамата натрия (в смеси равных объемов этилового спирта и воды) и 5 мл хлороформа. Содержимое делительной воронки взбалтывают в течение 0,5 мин, а затем хлороформный слой отделяют в другую делительную воронку. Для промывания хлороформного слоя к нему прибавляют 5 мл 0,3 н. раствора гидроксида натрия и взбалтывают. После взбалтывания хлороформного слоя с раствором щелочи отделяют водную фазу. Хлороформный слой, содержащий диэтилдитиокарбамат висмута, переносят в делительную воронку, прибавляют 3 мл 4 н. раствора азотной кислоты. Содержимое делительной воронки взбалтывают в течение 1 мин и отделяют хлороформный слой, который в дальнейшем не исследуют.

Водную фазу подвергают исследованию на наличие ионов висмута при помощи реакций с бруцином, хлоридом цезия и тиомочевинной.

Реакция с бруцином и бромидом калия. На предметное стекло наносят несколько капель водной фазы, которую выпаривают досуха. На сухой остаток наносят каплю 2 н. раствора азотной кислоты, а затем прибавляют каплю насыщенного раствора бруцина в 1 н. серной кислоте и каплю 5 %-го раствора бромида калия.

Оценка результата реакции. При наличии ионов висмута сразу же или через несколько минут образуются желто-зеленые кристаллы, собранные в виде сфероидов.

Реакция с хлоридом цезия и иодидом калия. На предметное стекло наносят несколько капель водной фазы, которую выпаривают досуха. На сухой остаток наносят 1—2 капли 3 н. раствора соляной кислоты. Затем с одной стороны жидкости на предметном стекле помещают кристаллик хлорида цезия $CsCl$, а с другой — кристаллик иодида калия. Нанесенные кристаллики реактивов с помощью тонкой стеклянной палочки соединяют с жидкостью.

Оценка результата реакции. При наличии ионов висмута в растворе образуются оранжево-красные кристаллы $Cs[BiI_4]$, имеющие форму шестиугольников или шестилучевых звездочек. Предел обнаружения: 0,1 мкг висмута в пробе. Граница обнаружения: 0,1 мг висмута в 100 г биологического материала.

Реакция с тиомочевинной. В пробирку вносят 0,5 мл водной фазы, к которой прибавляют 0,5 мл насыщенного раствора тиомочевинны.
Оценка результата реакции. В присутствии ионов висмута появляется лимонно-желтая окраска.

4.11. СОЕДИНЕНИЯ КАДМИЯ

Применение и токсичность соединений кадмия. Сульфид кадмия является одним из компонентов светящихся красок, используется для росписи на фарфоре и т. д. Сульфат кадмия также применяется для изготовления красок. Другие соединения кадмия (хлорид, бромид, иодид, нитрат, карбонат, ацетат) применяются в гальванотехнике, керамике, они входят в состав средств для чистки изделий из серебра. Ряд растворимых соединений кадмия применяется в химических лабораториях в качестве реактивов.

Известны бытовые отравления соединениями кадмия. При изготовлении фруктовых соков, варенья в посуде, в состав эмали которой входит кадмий, он может реагировать с кислотами, содержащимися в фруктах. При этом образуются соли, оказывающие токсическое действие на организм.

Незначительные количества кадмия являются составной частью некоторых клеток и тканей организма.

Всасывание соединений кадмия происходит через пищевой канал, а паров — через дыхательные пути. Растворимые соединения кадмия денатурируют белки, содержащиеся в стенках пищевого канала. Поступившие в кровь ионы кадмия соединяются с сульфгидрильными группами ферментов, нарушая их функции. Соединения кадмия накапливаются главным образом в печени и почках. Они могут вызывать жировое перерождение печени. Соединения кадмия выделяются из организма в основном через почки с мочой и стенками кишок. В ряде случаев при отравлении соединениями кадмия отмечается кишечное кровотечение.

4.11.1. Исследование минерализатов на наличие соединений кадмия

При исследовании минерализатов на наличие ионов кадмия их переводят в комплекс с диэтилдитиокарбаматом натрия. Этот комплекс экстрагируют хлороформом, а затем разлагают соляной кислотой. В солянокислом растворе определяют наличие ионов кадмия.

Выделение ионов кадмия из минерализата. В колбу вносят 10 мл минерализата, прибавляют 2 мл 10 %-го водного раствора глицерина, 4 мл 10 %-го раствора сегнетовой соли и 2—3 капли 0,1 %-го спиртового раствора нильского голубого (см. Приложение 1, реактив 24), являющегося индикатором. Затем прибавляют 2,5 н. раствор гидроксида натрия до появления розовато-красной окраски раствора. Содержимое колбы перемешивают и переносят в делительную воронку, в которую прибавляют 3 мл 1 %-го раствора диэтилдитиокарбамата натрия в смеси этилового спирта и воды (1:3) и 10 мл хлороформа. Содержимое делительной воронки энергично взбалтывают в течение 0,5 мин. После разделения фаз отделяют хлороформный слой, переносят его в другую делительную воронку, прибавляют 10 мл воды и взбалтывают. Затем водную фазу отделяют, а к хлороформному слою прибавляют 2 мл 1 н. раствора соляной кислоты. Содержимое делительной воронки взбалтывают в течение 0,5

мин, а затем от хлороформного слоя отделяют водную фазу, в которой определяют наличие ионов кадмия.

Реакция с сульфидом натрия. К 1 мл водной фазы по каплям прибавляют 2,5 н. раствор гидроксида натрия до $\text{pH} = 5$ (по универсальному индикатору) и 3—4 капли 5% -го свежеприготовленного раствора сульфида натрия.

Оценка результата реакции. Образование желтого осадка CdS указывает на наличие ионов кадмия в растворе. Предел обнаружения: 50 мкг кадмия в пробе. Граница обнаружения: 2 мг кадмия в 100 г биологического материала.

При отрицательном результате этой реакции дальнейшее исследование водной фазы на наличие ионов кадмия не производят. При положительной реакции образования сульфида кадмия дополнительно проверяют наличие ионов кадмия в водной фазе.

Реакция с бруцином и бромидом калия. 2—3 капли водной фазы наносят на предметное стекло и выпаривают досуха. На сухой остаток наносят каплю насыщенного раствора бруцина в 1 н. растворе серной кислоты и каплю 5 %-го раствора бромида калия.

Оценка результата реакции. При наличии ионов кадмия образуются бесцветные призматические кристаллы, собранные в виде сфероидов. Предел обнаружения: 0,12 мкг кадмия в пробе. Граница обнаружения: 0,1 мг кадмия в 100 г биологического материала.

Оценка результата двух проб. При отрицательных результатах двух описанных выше проб на наличие кадмия дается заключение об отсутствии в пробах ионов кадмия. При положительном результате проводится дальнейшее исследование.

Реакция с пиридином и бромидом калия. На предметное стекло наносят 2—3 капли водной фазы, которую выпаривают досуха. На сухой остаток наносят каплю пиридина и каплю 5 %-го раствора бромида калия.

Оценка результата реакции. При наличии ионов кадмия в растворе образуются бесцветные призматические кристаллы, собранные в виде сфероидов. Предел обнаружения: 0,05 мкг кадмия в пробе. Граница обнаружения: 0,2 мг кадмия в 100 г биологического материала.

4.12. СОЕДИНЕНИЯ МАРГАНЦА

Соединения марганца относятся к числу сильных протоплазматических ядов. Они действуют на центральную нервную систему, вызывая в ней органические изменения, поражают почки, легкие, органы кровообращения и т. д. При использовании концентрированных растворов перманганата калия для полоскания горла может наступить отек слизистых оболочек рта и глотки.

Прием внутрь концентрированных растворов соединений марганца может быть причиной перфорации желудка. Соединения марганца могут вызвать отек голосовых связок и т. д. При попадании концентрированных растворов соединений марганца в матку, влагалище, мочевого пузыря может появиться угроза перитонита.

Соединения марганца накапливаются в печени. Они выделяются из организма через пищевой канал и с мочой. При патолого-анатомическом вскрытии трупов лиц, умерших в результате отравления соединениями марганца, отмечаются ожоги слизистых оболочек в различных участках пищевого канала,

напоминающие ожоги, вызванные едкими щелочами. Обнаруживаются дегенеративные изменения в некоторых паренхиматозных органах.

4.12.1. Исследование минерализатов на наличие соединений марганца

Реакция с периодатом калия KIO_4 . Выполнение реакции. В пробирку вносят 1 мл минерализата, 4 мл воды, 1 мл насыщенного раствора дигидрофосфата натрия и 0,2 г периодата калия. Далее проводится нагревание пробирки на кипящей водяной бане в течение 20 мин.

Оценка результата. При наличии ионов марганца в минерализате раствор приобретает красно-фиолетовую или розовую окраску. Предел обнаружения: 0,1 мкг марганца в 1 мл. Граница обнаружения: 0,02 мг марганца в 100 г биологического материала.

Реакция с персульфатом аммония. Выполнение реакции. В пробирку вносят 1 мл минерализата, 4 мл воды, 1 мл насыщенного раствора дигидрофосфата натрия. Смесь нагревают на кипящей водяной бане в течение 5—6 мин. К горячему раствору прибавляют 1 каплю 10%-го раствора нитрата серебра и 0,5 г персульфата аммония. Смесь снова нагревают в течение нескольких минут (до разложения избытка персульфата). При наличии ионов марганца в минерализате появляется красно-фиолетовая или розовая окраска. Предел обнаружения: 0,1 мкг марганца в 1 мл. Граница обнаружения: 0,1 мг марганца в 100 г биологического материала.

Оценка результата двух проб. При отрицательных результатах двух описанных выше проб на наличие свинца дается заключение об отсутствии в пробах ионов свинца. При положительном результате дается заключение об обнаружении в пробе ионов марганца.

4.13. СОЕДИНЕНИЯ МЕДИ

Ряд неорганических соединений меди используется в сельском хозяйстве в качестве фунгицидов. Для борьбы с вредителями сельскохозяйственных культур также применяются соединения меди в сочетании с соединениями мышьяка. Сюда относятся парижская (швейнфуртская) зелень $Cu(CH_3COO)_2 \cdot 3Cu(AsO_2)_2$ и другие соединения меди. Сульфат меди применяется в технике для гальванопластики, пропитки древесины, а также используется в медицине как вяжущее и прижигающее средство. В медицине применяется и цитрат меди. Посуда из металлической меди, применяемая для варки фруктов, содержащих органические кислоты, также может быть причиной отравления. При использовании медной посуды для указанной цели могут возникать отравления и другими металлами (кадмием, оловом, цинком), которые в небольших количествах могут содержаться в медной посуде. Медь в небольших количествах содержится в некоторых тканях организма людей.

Всасывание соединений меди из желудка в кровь происходит медленно. Поскольку поступившие в желудок соли меди вызывают рвоту, они могут выделяться из желудка с рвотными массами. Поэтому в кровь из желудка поступают только незначительные количества меди. При поступлении соединений меди в желудок могут нарушаться его функции и появляться понос. После всасывания соединений меди в кровь они действуют на капилляры, вызывают гемолиз, поражение печени и почек. При введении

концентрированных растворов солей меди в глаза в виде капель может развиваться конъюнктивит и наступать повреждение роговицы.

Ионы меди выводятся из организма главным образом через кишки и почки.

4.13.1. Исследование минерализатов на наличие соединений меди

Выделение ионов меди из минерализата: к 10 мл минерализата прибавляют 2—3 капли индикатора (бесцветный 0,1 %-й спиртовой раствор 2,4-динитрофенола), а затем небольшими порциями прибавляют 25 %-й раствор аммиака до $pH=3$ (до перехода окраски индикатора в желтую). Жидкость переносят в делительную воронку, в которую прибавляют 5 мл хлороформного раствора диэтилдитиокарбамата свинца и взбалтывают. При этом хлороформный слой приобретает желтую или коричневую окраску. Хлороформный слой отделяют от водной фазы и переносят его в другую делительную воронку, в которую прибавляют 6 н. раствор соляной кислоты (для разрушения избытка диэтилдитиокарбамата свинца), взбалтывают и отделяют водную фазу. К хлороформному слою по каплям прибавляют 1 %-й раствор хлорида ртути (II). После этого содержимое делительной воронки взбалтывают. Прибавляют 1 %-й раствор хлорида ртути (II) (по каплям) и взбалтывают до тех пор, пока не наступит полное обесцвечивание хлороформного слоя. Затем, не отделяя хлороформный слой, в делительную воронку вносят 1,5—2,0 мл воды и интенсивно взбалтывают. Через 2—3 мин хлороформный слой отделяют от водной фазы, которую исследуют на наличие ионов меди при помощи реакций с тетра-роданомеркуроатом аммония, гексацианоферратом (II) калия и с пиридин-роданидным реактивом.

Приготовление раствора диэтилдитиокарбамата свинца (раствор в хлороформе). К 0,5 г ацетата свинца прибавляют воду до его растворения. К полученному раствору прибавляют 25 мл 10 %-го раствора нитрата калия. Смесь этих растворов переносят в делительную воронку и прибавляют 50 мл 1 %-го раствора диэтилдитиокарбамата аммония (или натрия). Содержимое делительной воронки несколько раз взбалтывают с новыми порциями хлороформа (по 50 мл) до тех пор, пока осадок не растворится и не перейдет полностью из водной фазы в хлороформный слой. Полученные при этом хлороформные вытяжки соединяют, доводят хлороформом до 250 мл, фильтруют и применяют в качестве реактива.

Реакция с тетрароданомеркуроатом аммония. Выполнение реакции. К 0,5 мл водной фазы прибавляют несколько капель 5 %-го раствора сульфата цинка и несколько капель раствора тетрароданомеркуроата аммония.

Оценка результатов. При наличии ионов меди выпадает розовато-лиловый или фиолетовый осадок. Предел обнаружения: 0,1 мкг меди в 1 мл.

Приготовление раствора тетрароданомеркуроата аммония. Смешивают 5 г хлорида ртути (II) и 5 г роданида аммония. Полученную смесь растворяют в 60 мл воды.

Реакция с гексацианоферратом (II) калия. Выполнение реакции. К 0,5 мл водной фазы прибавляют 2 капли 5 %-го раствора гексацианоферрата (II) калия.

Оценка результатов. При наличии ионов меди выпадает красно-бурый осадок. Предел обнаружения: 0,1 мкг меди в пробе.

Реакция с пиридин-роданидным реактивом. Выполнение реакции. В пробирку вносят 0,5 мл водной фазы, к которой по каплям прибавляют 1—2 мл пиридин-роданидного реактива. При этом образуется осадок (или муть), к которому прибавляют 2 мл хлороформа и хорошо взбалтывают.

Оценка результатов. При наличии ионов меди хлороформный слой приобретает изумрудно-зеленую окраску. Предел обнаружения: 1 мкг меди в 1 мл раствора. Граница обнаружения: 0,4 мг меди в 100 г биологического материала.

Приготовление пиридин-роданидного реактива Этот реактив представляет собой смесь равных объемов 50 %-го водного раствора пиридина и 20 %-го водного раствора роданида аммония.

4. 14. СОЕДИНЕНИЯ МЫШЬЯКА

Соединения мышьяка относятся к числу веществ, проявляющих сильное токсическое действие на организм людей и животных. Отмечены случаи отравлений ангидридом мышьяковистой кислоты, арсе-нитами, арсенатами, хлоридом мышьяка (III), мышьяковистым водородом, органическими препаратами мышьяка и др.

Ангидрид мышьяковистой кислоты применяется в медицине, в сельском хозяйстве (как инсектицид), в стекольной и кожевенной промышленности. Арсениты и арсенаты некоторых металлов применяются в качестве ядохимикатов. Сюда относится парижская (швейнфуртская) зелень. Определенное токсикологическое значение имеют органические соединения мышьяка, применяемые в медицине (новарсенол, осарсол и др.). Известны случаи отравлений мышьяковистым водородом. Очень токсичными являются боевые отравляющие вещества (люизит, адамсит и др.), содержащие мышьяк. Соединения пятивалентного мышьяка в организме превращаются в более токсичные соединения трехвалентного мышьяка. Определенное количество мышьяка содержится в тканях организма как составная их часть (см. табл. 1).

Водорастворимые соединения мышьяка хорошо всасываются из пищевого канала. Пыль, содержащая ангидрид мышьяковистой кислоты, мышьяксодержащие ядохимикаты, попадая в организм через дыхательные пути, действует на ферменты, содержащие сульфгидрильные группы. Это приводит к торможению обменных процессов в организме. В ряде случаев под влиянием соединений мышьяка наступает паралич капилляров. Некоторые соединения мышьяка оказывают некротизирующее действие. Это свойство ангидрида мышьяковистой кислоты используется в зубоврачебной практике. Поступивший в организм мышьяковистый водород проникает преимущественно в эритроциты, в результате чего наступает их гемолиз. Это приводит к закупорке почечных канальцев, возникновению желтухи и т. д. Мышьяк способен кумулироваться в организме.

При остром отравлении соединениями мышьяка они накапливаются в основном в паренхиматозных органах, а при хронических отравлениях — в костях и ороговевших тканях (покрыты кожи, ногти, волосы и др.).

Мышьяк выводится из организма через почки с мочой, кишки и через некоторые железы. Выделение мышьяка из организма происходит медленно, чем и обусловлена возможность его кумуляции. В экскрементах мышьяк еще

можно обнаружить через несколько недель, а в трупном материале — и через несколько лет после смерти.

4.14.1. Исследование минерализатов на наличие соединений мышьяка

Сущность метода. Применяемые в химико-токсикологическом анализе методы обнаружения мышьяка основаны на переведении его в мышьяковистый водород и на последующем определении мышьяковистого водорода при помощи реакции Зангер — Блека, реакции с раствором диэтилдитиокарбамата серебра в пиридине и реакции Марша. При всех этих реакциях из соединений мышьяка выделяется летучий и очень ядовитый мышьяковистый водород. Поэтому при выполнении всех перечисленных выше реакций на мышьяк требуется предосторожность.

Предварительные реакции.

Реакция Зангер — Блека. Выполнение реакции. В колбу аппарата Зангер — Блека вносят 2 мл минерализата, 10 мл 4 н. раствора серной кислоты, 5 мл воды и 1 мл 10 %-го раствора хлорида олова (II) в 50 %-й серной или соляной кислоте. Затем в колбу аппарата вносят 2 г мелких гранул «купрированного» цинка. Колбу аппарата закрывают насадкой, в которую вложена бумага, пропитанная хлоридом или бромидом ртути (II), а ниже вставлен тампон ваты, пропитанный ацетатом свинца. Аппарат оставляют на время, необходимое для образования на бумаге буровато-коричневого пятна. При наличии больших количеств мышьяка в пробе это пятно может появиться через несколько минут. При малых количествах мышьяка в минерализате пятно появляется через 30—45 мин. Если и через 45 мин не появится пятно, то бумагу опускают в 3 %-й водный раствор иодида калия. При этом бумага приобретает красноватую окраску. Затем бумагу опускают в насыщенный раствор иодида калия.

Оценка результата реакции. При наличии мышьяка в минерализате на бумаге остается желтое или коричневое пятно, а вокруг него исчезает красноватая окраска. Предел обнаружения: 0,1 мкг мышьяка в пробе. Граница обнаружения: 0,01 мг мышьяка в 100 г биологического материала.

Приготовление «купрированного» цинка». Цинк, не содержащий мышьяка, хорошо промывают водой и высушивают на воздухе. Затем на несколько секунд (до потемнения) его опускают в 0,05 %-й раствор сульфата меди. После этого цинк промывают водой и высушивают на воздухе.

Приготовление бумаги, пропитанной раствором хлорида или бромида ртути (III) Нарезанные кусочки фильтровальной бумаги пропитывают 5%-м спиртовым раствором бромида или хлорида ртути (II). Затем эту бумагу высушивают при комнатной температуре (в вытяжном шкафу) и сохраняют в склянке с притертой пробкой в темном прохладном месте. Бумагу можно применять в качестве реактива не более одного месяца со дня приготовления.

Приготовление ваты, пропитанной раствором ацетата свинца К 10 г основного ацетата свинца прибавляют 100 мл воды, а затем по каплям прибавляют уксусную кислоту до получения прозрачного или слегка опалесцирующего раствора. Этим раствором смачивают гигроскопическую вату, которую высушивают на воздухе. Высушенную вату сохраняют в склянке с притертой пробкой.

Реакция с раствором диэтилдитиокарбамата серебра в пиридине. Выполнение реакции. В колбу 1 аппарата вместимостью 50 мл вносят 2 г мелких гранул «купрированного» цинка, не содержащего мышьяка. Колбу закрывают притертой пробкой, в которую впаяна цилиндрическая воронка 2 с краном и отводная трубка 3. В цилиндрическую воронку вносят 10 мл минерализата, 5 мл воды, 1 мл 10 %-го раствора хлорида олова (II) в 50 %-м растворе серной или соляной кислоты. Конец отводной трубки опускают в приемник 4, в который наливают 1 мл 0,5 %-го раствора диэтилдитиокарбамата серебра в пиридине. После указанной выше подготовки прибора в цилиндрической воронке открывают кран и постепенно (в течение 10—15 мин) вливают ее содержимое в колбу аппарата, содержащую «купрированный» цинк. Как только закончится вытекание жидкости из воронки, ее ополаскивают 5 мл 4 н. раствором серной кислоты, которую тоже вливают в колбу с «купрированным» цинком, и наблюдают изменение окраски раствора диэтилдитиокарбамата серебра в пиридине.

Оценка результата реакции. При наличии мышьяка в исследуемом минерализате содержимое пробирки (приемника) приобретает розовую или красно-фиолетовую окраску. В зависимости от количества мышьяка в пробирке окраска жидкости появляется через 4—45 мин.

Предел обнаружения: 0,5 мкг мышьяка в 1 мл минерализата. Граница обнаружения: 0,01 мг мышьяка в 100 г биологического материала.

Приготовление раствора диэтилдитиокарбамата серебра в пиридине (раствор в пиридине). В 200 мл воды растворяют 3 г диэтилдитиокарбамата натрия. К этому раствору прибавляют 50 мл 7 %-го раствора нитрата серебра. Выпавший желтый осадок отфильтровывают через воронку Бюхнера и высушивают между листами фильтровальной бумаги. Из этого осадка готовят 0,5 %-й раствор в пиридине. Полученный раствор годен к употреблению 10 сут. Его сохраняют в прохладном месте в склянке из темного стекла.

Оценка результатов предварительных реакций. При отрицательном результате дальнейшее исследование минерализата на наличие мышьяка не производится. При положительном результате указанных реакций на мышьяк дополнительно выполняют реакцию Марша.

Реакция Марша. Определение мышьяка с помощью реакции Марша выполняют в три этапа. Вначале проверяют реактивы на отсутствие в них мышьяка, затем определяют мышьяк в исследуемом растворе и, наконец, проверяют подлинность налета, образовавшегося в восстановительной трубке.

Проверка чистоты реактивов. Прежде чем приступить к обнаружению мышьяка в исследуемом растворе, необходимо убедиться в том, что применяемые для этой цели реактивы («купрированный» цинк и серная кислота) не содержат мышьяка.

С этой целью в колбу аппарата Марша вносят 10 г мелких гранул «купрированного» цинка, колбу закрывают пробкой с вмонтированными капельной воронкой и отводной трубкой. В капельную воронку вносят 30 мл 10 %-го раствора серной кислоты, которую небольшими порциями (по 4—5 мл) приливают к «купрированному» цинку, находящемуся в колбе аппарата Марша. Всегда необходимо оставлять в капельной воронке 8—10 мл раствора серной

кислоты, которая препятствует проникновению воздуха извне в аппарат Марша. Попадание воздуха в аппарат Марша через капельную воронку может быть причиной взрыва этого аппарата при нагревании восстановительной трубки или при зажигании выходящих из нее газов.

Через 20—25 мин после начала выделения водорода проверяют полноту вытеснения воздуха водородом из аппарата Марша. Для этого над выходным отверстием восстановительной трубки аппарата держат опрокинутую узкую пробирку. Через 4—5 мин эту пробирку закрывают пальцем и, не переворачивая ее, относят подальше от аппарата Марша. К отверстию пробирки подносят зажженную спичку для воспламенения водорода. Если водород полностью вытеснил воздух из пробирки, то при зажигании водорода не будет ощущаться даже незначительного взрыва (треска). Если воздух из аппарата вытеснен не полностью, через аппарат продолжают пропускать водород до вытеснения им воздуха. Полноту вытеснения воздуха водородом проверяют через каждые 4—5 мин.

После полного удаления воздуха из прибора приступают к проверке наличия мышьяка в реактивах (серной кислоте и «купрированном» цинке).

Определение наличия мышьяка в реактивах. Для этой цели можно применить несколько способов.

Зажигают водород, выходящий из отверстия восстановительной трубки аппарата Марша. При наличии мышьяка в реактивах пламя приобретает синеватую окраску. Эту пробу можно производить только тогда, когда из аппарата Марша полностью вытеснен воздух водородом. При наличии хотя бы следов воздуха в аппарате во время зажигания газов, выходящих из трубки, может произойти взрыв.

Восстановительную трубку аппарата Марша перед одним из сужений обертывают куском металлической сетки (для равномерного нагревания), а находящееся за сеткой сужение трубки обертывают мокрым фитилем из марли. Один конец фитиля погружают в чашку с водой, а второй — в стакан для стекания жидкости. После этого расширенную часть трубки, обвернутую металлической сеткой, нагревают до слабого красного каления. Если в реактивах содержится мышьяк, то через некоторое время в охлажденной суженной части восстановительной трубки появляется темный налет с металлическим блеском (свободный мышьяк). Обычно проверку наличия металлического налета в трубке производят через час после начала нагревания восстановительной трубки.

Оценка результатов оценки чистоты реактивов. Если перечисленные выше опыты будут положительными, то делают вывод, что серная кислота или «купрированный» цинк, применявшиеся для получения водорода, непригодны для дальнейших исследований на наличие мышьяка. Только при отрицательных результатах опытов на наличие мышьяка серную кислоту и «купрированный» цинк можно применять для определения соединений этого элемента в минерализатах и в других объектах.

Исследование минерализата. В колбу аппарата Марша вносят 10 г «купрированного» цинка, не содержащего мышьяка, а в капельную воронку наливают 30 мл 4 н. раствора серной кислоты, которая тоже не содержит

мышьяка. Из капельной воронки небольшими порциями (по 4—5 мл) несколько раз приливают 4 н. раствор серной кислоты к цинку. Сразу прибавлять большие объемы раствора серной кислоты к цинку не следует, так как это вызовет бурную реакцию, в результате которой часть серной кислоты может восстановиться до сероводорода, который при нагревании восстановительной трубки будет образовывать налет серы. Также следует помнить, что в капельной воронке всегда должен оставаться небольшой объем раствора серной кислоты для предупреждения попадания воздуха в прибор через эту воронку. Спустя 15—20 мин после начала взаимодействия цинка с серной кислотой проверяют полноту вытеснения воздуха из аппарата Марша водородом, как указано выше. После полного вытеснения воздуха из аппарата Марша в капельную воронку, в которой еще остался небольшой объем раствора серной кислоты, вносят 20 мл минерализата и 2 мл 10%-го раствора хлорида олова (II) в 50 %-м растворе серной кислоты. Содержимое капельной воронки в течение 30—40 мин небольшими порциями вливают в колбу аппарата Марша и равномерно нагревают расширенную часть восстановительной трубки (перед сужением). Одновременно с этим при помощи фитиля из марли охлаждают суженную часть восстановительной трубки, расположенную за местом нагревания. Через 20—30 мин после начала нагревания восстановительной трубки проверяют наличие мышьяка в исследуемой пробе минерализата. С этой целью проводят ряд наблюдений и опытов.

Проверяют наличие налета в восстановительной трубке аппарата Марша. Наличие налета, его внешний вид и место расположения в восстановительной трубке может указывать на наличие мышьяка в пробе.

Зажигают водород, выходящий из трубки аппарата Марша. При наличии мышьяка в минерализате пламя приобретает синеватую окраску. Зажигание водорода производят только после вытеснения им воздуха из аппарата. Если из аппарата не полностью вытеснен воздух, то может быть взрыв.

В указанное пламя вносят холодные фарфоровые крышки или фарфоровые пластинки. Если в минерализате содержатся соединения мышьяка, то на холодных фарфоровых крышках или пластинках отложится буро-сероватый налет.

Восстановительную трубку аппарат Марша осторожно поворачивают на 180°, а затем конец ее погружают в 5 %-й раствор нитрата серебра, слабо подщелоченный аммиаком. Если в выходящем из аппарата токе газов содержится мышьяковистый водород, то указанный раствор потемнеет в результате образования металлического серебра: Выделившаяся при этих реакциях азотная кислота связывается аммиаком.

Оценка результата реакции. В течение первых 20—30 мин с начала реакции в аппарате Марша результаты перечисленных опытов и наблюдений могут быть положительными только при наличии относительно больших количеств мышьяка в минерализате. При малых количествах мышьяка в минерализате за указанное время налет его в восстановительной трубке не образуется. В связи с этим исследование минерализата на наличие мышьяка в аппарате Марша продолжают в течение часа. Если в восстановительной трубке аппарата Марша

образуется налет, то его подвергают дальнейшему исследованию на наличие мышьяка.

Оценка результата и исследование налета. Образование налета в восстановительной трубке является одним из важных доказательств наличия мышьяка в минерализате. Однако в восстановительной трубке могут давать налеты и другие вещества (сурьма, селен, сера, уголь).

Налеты мышьяка можно отличить от налетов других веществ по окраске и по расположению их в восстановительной трубке. Налет мышьяка имеет буровато-серую окраску с металлическим блеском, налет сурьмы — матово-черный, налет селена — серый, а налет серы — желтоватый или слегка бурый.

При несоблюдении условий разрушения биологического материала в минерализатах могут быть органические вещества, которые откладываются в восстановительной трубке в виде черного налета (уголь). Налет мышьяка откладывается в суженной части восстановительной трубки сразу же за местом ее нагревания, а налет сурьмы образуется по обе стороны от места нагревания восстановительной трубки. Это объясняется тем, что сурьмянистый водород (SbH_3) при нагревании разлагается легче, чем мышьяковистый водород. Кроме этого, сурьма менее летуча, чем мышьяк.

Для дальнейшего исследования налетов, образовавшихся в восстановительной трубке, ее отсоединяют от аппарата Марша и выполняют ряд опытов.

Восстановительную трубку в области расположения налета нагревают. При этом происходит окисление отложившихся в трубке веществ. Налеты угля и серы исчезают из трубки, так как при их окислении образуются газообразные продукты (оксид серы (IV) или оксид углерода (IV)). Налеты мышьяка и сурьмы окисляются и откладываются в виде оксидов в холодных местах восстановительной трубки. Оксид мышьяка имеет форму октаэдров, а оксид сурьмы аморфный. Оценка результата. Образование кристаллов, имеющих форму октаэдров, является одним из важнейших доказательств наличия мышьяка в минерализате.

При пропускании сероводорода через восстановительную трубку, содержащую оксиды мышьяка или сурьмы, образуются сульфиды, отличающиеся друг от друга окраской.

Оценка результата. Сульфид мышьяка имеет желтую окраску, а сульфид сурьмы — красную или черную. При действии концентрированной соляной кислоты окраска сульфида мышьяка не изменяется, а сульфид сурьмы обесцвечивается:

Налеты мышьяка, которые образуются в восстановительной трубке, растворяются в свежеприготовленном растворе гипохлорита натрия: Налеты сурьмы не растворяются в гипохлорите натрия.

Отложившиеся в восстановительной трубке налеты мышьяка и сурьмы могут быть использованы для обнаружения этих веществ при помощи микрокристаллоскопических реакций. При обработке этих налетов несколькими каплями концентрированной азотной кислоты они растворяются с образованием мышьяковой и метасурьмяной кислот:

Полученные растворы указанных кислот наносят на предметные стекла, а затем осторожно выпаривают досуха. На сухие остатки наносят по капле 5 н. раствора соляной кислоты и по кристаллику хлорида цезия.

Оценка результата. В присутствии сурьмы образуются бесцветные кристаллы в виде многогранников. Соединения мышьяка с этим реактивом не дают кристаллов. Если к указанному раствору прибавить кристаллик хлорида цезия и кристаллик иодида калия, то мышьяк дает красно-оранжевый осадок.

4.15. СОЕДИНЕНИЯ СЕРЕБРА

Применение и токсичность соединений серебра. Из соединений серебра токсичным является нитрат этого металла, который используется в медицине как дезинфицирующее, вяжущее и прижигающее средство. Он входит в состав ляписного карандаша и т. д. Нитрат серебра является одним из реактивов, широко применяемых в химических лабораториях. Отравление серебром может наступить при вдыхании пыли, образующейся при переработке руд, содержащих этот металл. В малых количествах серебро содержится в клетках и тканях организма (см. Приложение 1). Соединения серебра, поступившие в желудок, всасываются в кровь в незначительных количествах. Часть этих соединений взаимодействует с соляной кислотой содержимого желудка и превращается в хлорид, нерастворимый в воде. Нитрат серебра действует на кожу и слизистые оболочки. В результате этого могут возникать «химические» ожоги. При поступлении в организм через дыхательные пути пыли, содержащей серебро или его соединения, возникает опасность поражения капилляров. Длительный прием соединений серебра внутрь может быть причиной аргирии (отложения серебра в тканях), при которой кожа приобретает серо-зеленую или коричневатую окраску.

Соединения серебра выводятся из организма главным образом через кишки.

4.15.1. Исследование минерализатов на наличие серебра

Для обнаружения ионов серебра в минерализатах применяют реакции с дитизоном, хлоридами.

Выполнению реакции образования дитизоната серебра мешают ртуть и некоторые другие металлы, катионы которых в кислой среде образуют дитизонаты. Однако дитизонат серебра отличается от дитизонатов ртути и других металлов окраской и отношением к растворам кислот. Однозамещенный дитизонат серебра имеет желтую окраску, а дитизонат ртути окрашен в оранжево-желтый цвет. Дитизонат серебра разлагается 0,5 н. раствором соляной кислоты, а дитизонат ртути в этих условиях не разлагается.

При более высоких значениях pH и недостаточном количестве ионов серебра в растворе образуется двухзамещенный дитизонат. Этого катиона $Ag_2 Dz$, имеющий красно-фиолетовую окраску. При избытке дитизона и подкислении растворов $Ag_2 Dz$ легко переходит в $AgHDz$.

Выполнение реакции. В делительную воронку вносят 5 мл минерализата, 1 мл 8 н. раствора серной кислоты и 3 мл 0,01 %-го раствора дитизона в хлороформе или в четыреххлористом углероде. После встряхивания содержимого делительной воронки хлороформный слой приобретает желтую окраску (образуется $AgHDz$). Если в минерализате содержится незначительное количество ионов серебра, то желтая окраска $AgHDz$ маскируется зеленой

окраской избытка дитизона. Чтобы удалить избыток дитизона из хлороформного слоя, этот слой отделяют от водной фазы и взбалтывают с 5 мл 0,3 н. раствора аммиака. При этом аммониевая соль дитизона переходит в водную фазу, а хлороформный слой, содержащий дитизонат серебра, имеет желтую окраску. Затем от водной фазы отделяют хлороформный слой, который взбалтывают с 5 мл 0,5 н. раствора соляной кислоты. При этом дитизонат серебра разлагается.

Оценка результатов. Освободившийся дитизон остается в хлороформном слое, окрашивая его в зеленый цвет (отличие от ртути). Предел обнаружения: 0,04 мкг серебра в 1 мл. Граница обнаружения: 0,05 мг серебра в 100 г биологического материала.

При положительном результате реакции с дитизоном производят дальнейшее обнаружение серебра при помощи других качественных реакций. При отрицательном результате делается заключение об не обнаружении в пробе ионов серебра.

Приготовление раствора дитизона (раствор в хлороформе или в четыреххлористом углероде). Дитизон (дифенилтиокарбазон) представляет собой кристаллы в виде тонких игл сине-черного цвета с фиолетовым оттенком. В воде он практически нерастворим. Легко растворяется в органических растворителях. В растворах дитизон проявляет способность к кето-енольной таутомерии.

Товарный дитизон может содержать примеси дифенилтиокарбадиазона (продукт окисления дитизона), дитизонатов некоторых металлов и других веществ. Окраска этих примесей мешает обнаружению ионов металлов с помощью дитизона. Поэтому перед приготовлением раствора дитизона его подвергают очистке.

В 150 мл хлороформа или четыреххлористого углерода растворяют 0,2 г дитизона и через 5—10 мин фильтруют. Фильтрат собирают в делительную воронку вместимостью 500 мл, прибавляют 50 мл 3 н. раствора аммиака и взбалтывают. При этом водный слой, содержащий аммонийную соль дитизона, приобретает желтую или оранжевую окраску, а хлороформный слой, в котором содержится дифенилтиокарбадиазон, — коричневую или красно-бурую окраску. Затем от хлороформного слоя отделяют водную фазу и взбалтывают ее с новыми порциями хлороформа до тех пор, пока водный слой не будет иметь неизменяющуюся желтую окраску. После этого отделяют водную фазу и к ней (при охлаждении льдом) прибавляют 2—3 г аскорбиновой кислоты и 4 н. раствор серной кислоты до pH = 3...4. Выделившийся при этом дитизон из водной фазы несколько раз экстрагируют хлороформом (по 15 мл). Экстракцию дитизона новыми порциями хлороформа проводят до тех пор, пока последняя хлороформная вытяжка не перестанет окрашиваться в зеленый цвет. После этого хлороформные вытяжки соединяют и доводят их хлороформом до 200 мл. Этот раствор, содержащий 0,1 % дитизона, имеет зеленую окраску. Его сохраняют в холодном месте в склянке из темного стекла. На поверхность хлороформного раствора дитизона наносят слой 0,2 н. раствора серной кислоты толщиной 0,5 см.

Реакция с хлоридом натрия. К 100 мл минерализата прибавляют 0,5 г хлорида натрия и эту смесь хорошо взбалтывают. Если в минерализате содержатся ионы серебра, то образуется белый осадок AgCl . При наличии в минерализате незначительного количества ионов серебра белый осадок может не появиться. Независимо от появления осадка смесь минерализата и хлорида натрия нагревают до $80\text{ }^\circ\text{C}$ и оставляют на 2 ч. Если и за это время не образуется осадок, то указанную смесь оставляют на сутки. После этого образовавшийся осадок хлорида серебра отфильтровывают. Полученный при этом фильтрат используют для обнаружения катионов других металлов, имеющих токсикологическое значение.

Находящийся на фильтре осадок хлорида серебра промывают 0,5 н. раствором соляной кислоты, а затем, дистиллированной водой. После этого осадок растворяют в 0,5—4 мл 8 н. раствора аммиака (не допуская его избытка). Полученный при этом аммиакат серебра $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]\text{Cl}$ используют для обнаружения ионов серебра при помощи реакций с азотной кислотой, иодидом калия и тиомочевинной.

Реакция с азотной кислотой. К 0,1—0,5 мл раствора, содержащего аммиакат серебра, добавляют азотную кислоту до $\text{pH} = 1$.

Оценка результатов. Образование белого осадка указывает на наличие ионов серебра в растворе. Предел обнаружения: 0,1 мкг серебра в 1 мл. Граница обнаружения: 1 мг серебра в 100 г биологического материала.

Реакция с иодидом калия. К 0,5 мл раствора, содержащего аммиакат серебра, прибавляют 0,5 мл насыщенного раствора иодида калия.

Оценка результатов. Появление мути или желтого осадка указывает на наличие серебра в исследуемом растворе.

Реакция с тиомочевинной и пикратом калия. 1—2 капли раствора, содержащего аммиакат серебра, наносят на предметное стекло и выпаривают досуха. На сухой остаток наносят несколько капель насыщенного раствора тиомочевинной, а затем — каплю насыщенного раствора пикрата калия. Оценка результатов. Образование желтых призматических кристаллов или сростков из них указывает на наличие серебра в исследуемой пробе. Предел обнаружения: 0,1 мкг серебра в пробе. Граница обнаружения: 0,05 мг серебра в 100 г биологического материала.

4.16. СОЕДИНЕНИЯ СУРЬМЫ

Многие соединения сурьмы обладают токсичностью. Соединения трехвалентной сурьмы более токсичны, чем соединения пятивалентной сурьмы. Соединения сурьмы применяются в медицине и в различных отраслях народного хозяйства. Они используются для приготовления некоторых сортов стекла, красок, резиновых изделий и т. д. Сульфид сурьмы (V) применяется в пиротехнике, в производстве спичек, для вулканизации каучука и т. д.

Более широкое применение в медицине имеют органические соединения сурьмы, применяемые как химиотерапевтические препараты. Токсичность органических соединений сурьмы меньшая, чем токсичность неорганических соединений этого элемента. Очень токсичным является сурьмянистый водород, при вдыхании которого отмечается нарушение функций центральной нервной

системы, гемолиз и ряд других изменений в организме. Действие соединений сурьмы на организм во многом подобно действию мышьяка. Поступившие в кровь соединения сурьмы действуют как «капиллярный яд». При отравлении органическими соединениями сурьмы нарушаются функции сердечной мышцы и печени.

При патологоанатомическом исследовании трупов лиц, отравленных соединениями сурьмы, отмечается гиперемия ткани легких, кровоизлияние в легких и в пищевом канале.

Сурьма выделяется из организма главным образом через почки. Поэтому при отравлении сурьмой может развиваться нефрит.

4.16.1. Исследование минерализата на наличие сурьмы

Реакция с малахитовым зеленым. Выполнение реакции. В делительную воронку вносят 5 мл минерализата, добавляют 1 мл концентрированной серной кислоты, 3 мл 5 н. раствора соляной кислоты и 2 капли 5 %-го раствора нитрита натрия. Смесь взбалтывают, а затем через 5 мин добавляют 1 мл насыщенного раствора мочевины и 7 капель 0,5 %-го раствора малахитового зеленого в смеси воды и этилового спирта (3:1), 2 г безводного сульфата натрия и 5 мл толуола. Содержимое делительной воронки взбалтывают в течение 10–15 с. При наличии сурьмы в минерализате слой толуола приобретает синюю или голубую окраску. Окрашенный толуольный слой переносят в другую делительную воронку, прибавляют 3 мл 5 н. раствора серной кислоты и взбалтывают.

Оценка результатов. При наличии сурьмы в минерализате толуольный слой не должен обесцвечиваться. Предел обнаружения: 0,05 мкг сурьмы в 1 мл. Граница обнаружения: 0,1 мг сурьмы в 100 г биологического материала.

Этой реакции мешают ионы таллия, которые в указанных условиях опыта дают такую же окраску, как и ионы сурьмы.

Реакция с тиосульфатом натрия. Выполнение реакции. В пробирку вносят 5 мл минерализата, прибавляют 5 капель насыщенного раствора тиосульфата натрия, а затем смесь кипятят в течение 1–2 мин. Образование оранжевого осадка Sb_2S_3 указывает на наличие сурьмы в минерализате. Предел обнаружения: 10 мкг сурьмы в пробе. Граница обнаружения: 0,4 мг сурьмы в 100 г биологического материала.

Эту реакцию в основном применяют для отличия сурьмы от таллия, который не дает осадка с тиосульфатом натрия.

4.17. СОЕДИНЕНИЯ ТАЛЛИЯ

Соединения таллия используются в различных отраслях народного хозяйства. Сульфат таллия применяется для обработки дерева, кожи и др. Сульфат таллия входит в состав смесей, применяемых для уничтожения крыс, мышей и других грызунов. Ацетат таллия применяется для удаления волос.

При отравлении соединениями таллия поражается центральная нервная система (может быть распад миелиновой оболочки), наступает паралич парасимпатической нервной системы, происходит поражение почек. При отравлении соединениями таллия выпадают волосы (облысение). Из других явлений при отравлении таллием отмечается расстройство функций

пищеварительной системы, наступает рвота, боли в суставах и т. д. По токсичности таллий во многом напоминает действие мышьяка и свинца.

Соединения таллия после поступления в кровь быстро распределяются в организме. Они выводятся из организма преимущественно через почки и кишечник. Выделение соединений таллия из организма происходит медленно (опасность кумуляции).

При судебно-медицинском и гистологическом исследовании трупа наблюдаются кровоизлияния и некроз слизистых оболочек пищевого канала, некротические изменения в почках, перерождение печени и др.

4.17.1. Исследование минерализатов на наличие таллия

Реакция с дитизоном. Выполнение реакции. В делительную воронку вносят 5 мл минерализата, 2 мл 20%-го раствора лимонной кислоты, 2 мл насыщенного раствора тиомочевины, 2 мл 10 %-го раствора сульфата гидроксиламина, 2 мл 5 %-го раствора цианида калия, а затем добавляют 3 н. раствор аммиака до pH=11—12 (по универсальному индикатору). Смесь взбалтывают, прибавляют еще 1 мл 3 н. раствора аммиака и 3 мл 0,01 %-го раствора дитизона в хлороформе. Содержимое делительной воронки взбалтывают, а затем отстаивают. В присутствии ионов таллия зеленая окраска хлороформного слоя переходит в красную. При незначительном содержании таллия в минерализате может не наступить изменение окраски хлороформного слоя (зеленая окраска раствора дитизона может маскировать красную окраску дитизоната таллия).

Поэтому независимо от изменения окраски хлороформного слоя его отделяют от водной фазы, переносят в другую делительную воронку и промывают смесью равных объемов 3 н. раствора аммиака и 1 %-го раствора цианида калия. После прибавления указанных растворов содержимое делительной воронки взбалтывают.

Оценка результатов. При наличии ионов таллия в минерализате хлороформный слой приобретает розовую или красную окраску. Предел обнаружения: 0,1 мкг таллия в 1 мл раствора. Граница обнаружения: 0,1 мг таллия в 100 г биологического материала.

Сурьма не дает этой реакции.

Приготовление раствора дитизона (см. выше).

Реакция с малахитовым зеленым. Выполнение реакции. В делительную воронку вносят 5 мл минерализата, прибавляют 1 мл концентрированной серной кислоты, 3 мл 5 н. раствора соляной кислоты и 2 капли 5 %-го раствора нитрита натрия. Смесь взбалтывают, а затем через 5 мин прибавляют 1 мл насыщенного раствора мочевины и 7 капель 0,5 %-го раствора малахитового зеленого в смеси воды и этилового спирта (3: 1), 2 г безводного сульфата натрия и 5 мл толуола, а затем поступают так, как указано при описании способа обнаружения сурьмы с малахитовым зеленым.

Оценка результатов. При наличии таллия в минерализате слой органического растворителя приобретает синюю или голубую окраску.

Сурьма мешает обнаружению таллия при помощи этой реакции, так как при обнаружении ионов этих веществ образуются соединения, имеющие одинаковую окраску. Предел обнаружения: 0,03 мкг таллия в 1 мл. Граница обнаружения: 0,1 мг таллия в 100 г биологического материала.

Для отличия таллия от сурьмы применяют реакцию с дитизоном, которую дает таллий и не дает сурьма.

4.18. СОЕДИНЕНИЯ ХРОМА

Соединения хрома широко используются в различных отраслях народного хозяйства. Они применяются в кожевенной и текстильной промышленности, используются для хромирования металлических изделий, для производства спичек, красок, кино- и фотопленок. В химической промышленности соединения хрома применяются как окислители. Ряд соединений хрома применяется в химических лабораториях в качестве реактивов. Ввиду токсичности соединений хрома они не применяются в медицине.

Из соединений хрома, применяемых в различных отраслях народного хозяйства, наиболее ядовитыми являются хроматы и дихроматы. Причем дихроматы более ядовиты, чем хроматы. Хроматы и дихроматы оказывают раздражающее и прижигающее действие на кожу и слизистые оболочки, вызывая изъязвления. Под влиянием хроматов и дихроматов может наступить гемолиз и образуется метгемоглобин. После поступления соединений хрома в организм через пищевой канал может наступать припухлость, а затем ожоги слизистых оболочек рта, пищевода и желудка. Пораженные соединениями хрома участки пищевого канала приобретают желтую окраску. При отравлении соединениями хрома могут наступить понос и кровавая рвота. Иногда рвотные массы имеют желтую или зеленую окраску. При поступлении в организм больших количеств пыли, содержащей соединения хрома, развивается пневмония.

При острых отравлениях соединениями хрома они накапливаются в печени, почках и эндокринных железах. Соединения хрома выводятся из организма в основном через почки. В связи с этим при отравлении указанными соединениями поражаются почки и слизистые оболочки мочевыводящих путей.

4.18. 1. Исследование минерализатов на наличие хрома

Реакция образования надхромовой кислоты. Выполнение реакции. В пробирку вносят 5 мл минерализата, по каплям прибавляют 30%-й раствор гидроксида натрия до $\text{pH} = 7$. Затем в пробирку вносят еще 1 мл минерализата и содержимое пробирки взбалтывают. После этого в пробирку вносят 1—2 капли 10 %-го раствора нитрата серебра, 0,5 г персульфата аммония и нагревают на кипящей водяной бане в течение 20 мин. Затем пробирку с содержимым охлаждают в ледяной воде в течение 10—15 мин. К охлажденной жидкости добавляют 1 мл насыщенного раствора дисидрофосфата натрия и проверяют pH среды. При необходимости жидкость доводят до $\text{pH} = 1,5—1,7$. После этого в пробирку вносят уксусно-этиловый эфир, толщина слоя которого должна быть около 0,5—0,6 см, и 2—3 капли 25 %-го раствора пероксида водорода. Содержимое пробирки энергично взбалтывают.

Оценка результатов. При наличии ионов хрома Cr^{3+} в минерализате слой органического растворителя приобретает окраску (от голубой до синей). Предел обнаружения: 2 мкг хрома в 1 мл. Граница обнаружения: 0,2 мг хрома в 100 г биологического материала.

Реакция с дифенилкарбазидом. Выполнение реакции. В пробирку вносят 1 мл минерализата, к которому прибавляют 4 мл воды, 1 каплю 10 %-го раствора нитрата серебра и 0,5 г персульфата аммония. Пробирку со смесью нагревают на кипящей водяной бане в течение 20 мин, а затем в нее вносят 1 мл насыщенного раствора дигидрофосфата натрия и по каплям добавляют 5 %-й раствор гидроксида натрия до $pH=1,5-1,7$. После доведения жидкости до указанного pH к ней добавляют 1 мл 0,25 %-го раствора дифенилкарбазида в смеси этилового спирта и ацетона (1:1) и взбалтывают содержимое пробирки.

Оценка результатов. При наличии ионов хрома в минерализате раствор приобретает розовую или красно-фиолетовую окраску. Предел обнаружения: 0,002 мкг хрома в 1 мл. Граница обнаружения: 0,1 мг хрома в 100 г биологического материала.

Обнаружение хромат-ионов в присутствии перманганат-ионов. Выполнение реакции. В углубление на капельной пластинке вносят каплю исследуемого раствора, прибавляют каплю концентрированной серной кислоты и несколько кристалликов азиды натрия. Смесью перемешивают стеклянной палочкой до исчезновения окраски перманганат-ионов. Затем прибавляют каплю 1 %-го спиртового раствора дифенилкарбазида.

Оценка результатов. В присутствии хроматов появляется сине-фиолетовая или красная окраска. Предел обнаружения: 0,5 мкг хромат-ионов в пробе.

4.19. СОЕДИНЕНИЯ ЦИНКА

Цинк и его соединения широко используются в народном хозяйстве, а некоторые из них применяются и в медицине. Цинк применяется для покрытия железа с целью защиты его от коррозии, а также для изготовления цинковой посуды. Оксид цинка применяется в медицине как вяжущее средство в виде мазей и паст. Сульфат цинка используется в офтальмологии. Он применяется в качестве протравы при крашении тканей. Сульфид цинка применяется для изготовления светящихся красок. Фосфид цинка — очень токсичный. Его применяют для борьбы с грызунами. Стеарат цинка входит в состав пудры и некоторых мазей. Ундецилат цинка является противомикозным средством. Соединения цинка применяются в химических лабораториях в качестве реактивов. Незначительные количества цинка содержатся в тканях организма (см. Приложение 1).

Цинк и его соединения могут поступать в организм через пищевой канал, а также через органы дыхания в виде пыли, образующейся при добыче и переработке цинковых руд. Цинк может поступать в организм с вдыхаемым воздухом в виде паров, выделяющихся при выплавке цинка и получении сплавов. После поступления цинка в организм в виде пыли и паров образуются его соединения с белками, вызывающие приступы лихорадки, начинающейся с озноба (так называемая лихорадка литейщиков, или латунная лихорадка). При вдыхании пыли и паров цинка может появиться тошнота, рвота и мышечные боли. Описаны случаи отравлений пищей, приготовленной и сохраняемой в оцинкованной посуде, из продуктов, содержащих кислоты (богатые кислотами фрукты, томат и др.). Соединения цинка, поступившие в желудок, могут

вызывать острое отравление, при котором наступает рвота, понос, судороги и т. д.

При отравлениях соединениями цинка они накапливаются в печени и поджелудочной железе.

4.19.1. Исследование минерализатов на наличие цинка

Реакция с дитизоном. Выполнение реакции. В стакан вносят 0,5 мл минерализата, к которому прибавляют 0,25 мл насыщенного раствора тиосульфата натрия, а затем по каплям прибавляют 5 %-й раствор гидроксида калия до $\text{pH} = 4,5\text{—}5,0$ (по универсальному индикатору). К этой смеси прибавляют 1 мл ацетатного буферного раствора ($\text{pH} = 5$), жидкость хорошо перемешивают и количественно переносят в делительную воронку, в которую прибавляют 1 мл хлороформа, 2 капли 0,01 %-го раствора дитизона в хлороформе, а затем содержимое делительной воронки хорошо взбалтывают.

Оценка результатов. При наличии ионов цинка в минерализате зеленая окраска хлороформного слоя исчезает, а появляется розовая или пурпурно-красная окраска этого слоя (в зависимости от количества ионов цинка). Предел обнаружения: 0,25 мкг в 1 мл. Граница обнаружения: 5 мкг цинка в 100 г биологического материала.

Если результат этой предварительной реакции отрицательный, то дальнейшее исследование минерализата на наличие ионов цинка не проводят. При положительном результате реакции с дитизоном проводят дальнейшее исследование минерализата на ионы цинка.

Приготовление раствора дитизона (см. выше).

4.19.2. Выделение ионов цинка из минерализата. В делительную воронку вносят 10 мл минерализата, 4 мл 10 %-го раствора сегнетовой соли (или 4 мл 20 %-го раствора лимонной кислоты) и 1 мл насыщенного раствора тиосульфата натрия. К этой смеси добавляют несколько капель индикатора (0,1 %-ый раствор нильского голубого), а затем по каплям добавляют 2,5 н. раствор гидроксида натрия до появления розовой окраски. К содержимому делительной воронки добавляют 2 н. раствор серной кислоты до $\text{pH} = 8,5$ (по универсальному индикатору), 3 мл 1 %-го раствора диэтилдитиокарбамата натрия в смеси воды и спирта (3:1) и 5 мл хлороформа. Содержимое делительной воронки интенсивно взбалтывают, а затем хлороформный слой отделяют от водной фазы и переносят в другую делительную воронку. К хлороформному слою прибавляют 10 мл воды и взбалтывают. Водную фазу отделяют от хлороформного слоя, к которому прибавляют 3 мл 1 н. раствора соляной кислоты, а затем взбалтывают в течение 0,5 мин. После взбалтывания от хлороформной фазы отделяют водную фазу, в которой определяют наличие ионов цинка при помощи реакций с гексацианоферратом (II) калия, сульфидом натрия и тетраданомеркуроатом аммония.

Реакция с гексацианоферратом (II) калия. К 1 мл водной фазы добавляют 5 %-й раствор гидроксида калия до $\text{pH} = 5$ (по универсальному индикатору) и 3—4 капли 5 %-го раствора гексацианоферрата (II) калия.

Оценка результата. При наличии ионов цинка выделяется белый осадок. При добавлении избытка реактива может образоваться более растворимый осадок $[Zn_2 [Fe(CN)_6]]$.

Предел обнаружения: 3 мкг цинка в 1 мл.

Реакция с сульфидом натрия. К 1 мл водной фазы прибавляют 5 %-й раствор гидроксида калия до $pH = 5$ и 3—4 капли 5 %-го свежеприготовленного раствора сульфида натрия. Оценка результата. Образование белого осадка ZnS указывает на наличие ионов цинка в водной фазе. Предел обнаружения: 1,5 мкг цинка в 1 мл.

Реакция с тетрароданомеркуроатом аммония. На предметное стекло наносят 3—4 капли водной фазы, которую выпаривают досуха. На сухой остаток наносят каплю 10 %-го раствора уксусной кислоты и каплю раствора тетрароданомеркуроата аммония $(NH_4)_2 [Hg(SCN)_4]$.

Оценка результата. В присутствии ионов цинка образуются бесцветные одиночные клиновидные кристаллы или дендриты $Zn [Hg(SCN)_4]$. Предел обнаружения: 0,2 мкг цинка в 1 мл.

Приготовление раствора тетрароданомеркуроата аммония. Смешивают 5 г хлорида ртути (II) и 5 г роданида аммония. Полученную смесь растворяют в 60 мл воды.

4.20. СОЕДИНЕНИЯ РТУТИ

Ртуть и ее соединения применяются в **технике, химической промышленности, медицине**. Металлическая ртуть применяется в медицине для приготовления мази. В технике она используется при изготовлении ламп, термометров и ряда приборов. При поступлении металлической ртути в желудок она малотоксична. Токсичными являются большинство ее соединений. Желтый оксид ртути (II) входит в состав глазной мази и мазей для лечения кожных заболеваний. Красный оксид ртути (II) применяется для получения красок. Хлорид ртути (I), который называется каломель, используется в пиротехнике, а также в качестве фунгицида. В ряде стран каломель используется в качестве слабительного. Токсическое действие каломели проявляется особенно тогда, когда после приема ее внутрь не наступает слабительное действие и организм долгое время не освобождается от этого препарата. Хлорид ртути (II), который называется сулема, является очень токсичным. Сулема применяется в медицине как дезинфицирующее средство, в технике она используется для обработки дерева, получения некоторых видов чернил, травления и чернения стали. В сельском хозяйстве сулема применяется как фунгицид. Амидохлорид ртути (белый преципитат ртути) входит в состав некоторых мазей. В ветеринарии амидохлорид ртути применяется как средство против паразитарных заболеваний кожи. Нитрат ртути (II) применяется для отделки меха и получения других соединений этого металла. Токсичность нитрата ртути (II) примерно такая же, как и токсичность сулемы. Многие органические соединения ртути используются в качестве пестицидов и средств для обработки семян. Отдельные органические соединения ртути применяются как диуретические средства. Незначительные количества ртути содержатся в тканях организма (см. Приложение 1).

Пары металлической ртути и пыль, содержащая соединения этого металла, могут поступать в организм с вдыхаемым воздухом. При этом поражается центральная нервная система (в первую очередь кора головного мозга). Поступившая в организм металлическая ртуть и ее соединения связываются с сульфгидрильными группами ферментов и других жизненно важных белков. В результате этого нарушаются физиологические функции некоторых клеток и тканей организма. Соединения ртути, поступившие в организм через пищевой канал, поражают желудок, печень, почки, железы, через которые выделяется ртуть из организма. При этом ощущаются боли в пищеводе и желудке, появляется рвота и кровавый понос. В организме ртуть откладывается главным образом в печени и почках.

Ртуть медленно выводится из организма. Еще через две недели после острого отравления ртутью определенные количества ее можно обнаружить в отдельных тканях. Ртуть выводится из организма с мочой и калом, а также потовыми, слюнными и молочными железами.

При патологоанатомическом вскрытии трупов лиц, отравленных соединениями ртути, обнаруживается покраснение и набухание (а иногда и некроз) слизистых оболочек пищевода и желудка, воспаление или некроз тканей в толстой кишке и в нижнем отделе тонкой кишки, наличие язв. Если при отравлении ртутью смерть наступает через 10—14 сут, то на вскрытии обнаруживается поражение почек (так называемый сулемовый нефроз).

4.20.1. Методика деструкции органов трупов. 20 г измельченных органов трупов вносят в коническую колбу вместимостью 200 мл, в которую прибавляют 5 мл воды, 1 мл этилового спирта и 10 мл концентрированной азотной кислоты. Затем в колбу малыми порциями прибавляют 20 мл концентрированной серной кислоты с такой скоростью, чтобы оксиды азота не выделялись из колбы. После окончания прибавления концентрированной серной кислоты колбу оставляют на 5—10 мин при комнатной температуре (до прекращения выделения оксидов азота). Затем колбу устанавливают на кипящую водяную баню и нагревают в течение 10—20 мин. Если после нагревания колбы на кипящей водяной бане останутся не разрушенными кусочки биологического материала, то их осторожно растирают стеклянной палочкой о стенки колбы. При бурном протекании реакции с выделением оксидов азота в колбу прибавляют 30—50 мл горячей воды. Полученный горячий деструктат смешивают с двойным объемом кипящей воды и, не охлаждая жидкость, фильтруют ее через двойной увлажненный фильтр. Фильтр, через который фильтровали деструктат, и остатки жира на нем 2—3 раза промывают горячей водой. Промывные воды присоединяют к профильтрованному деструктату. Полученную при этом жидкость собирают в колбу, содержащую 20 мл насыщенного раствора мочевины, предназначенной для денитрации деструктата. Затем деструктат охлаждают, доводят водой до определенного объема и исследуют его на наличие ртути.

4.20.2. Методика деструкции органических веществ в моче.

Способ 1. В колбу Кьельдаля вместимостью 500 мл вносят пробу не фильтрованной суточной мочи объемом 200 мл. К моче прибавляют 35 мл концентрированной азотной кислоты, 2 мл этилового спирта и небольшими

порциями в колбу вносят 25 мл концентрированной серной кислоты. Прибавляют эту кислоту так, чтобы не вспенивалась жидкость в колбе и не выделялись из нее оксиды азота. После окончания прибавления концентрированной серной кислоты содержимое колбы нагревают на кипящей водяной бане в течение 40 мин, затем прибавляют 20 мл насыщенного раствора мочевины. Если в деструктате имеется осадок, то его отфильтровывают, фильтр промывают горячей водой. Промывные воды присоединяют к деструктату, который подвергают исследованию на наличие ртути.

Способ 2. В колбу Кьельдаля вместимостью 500 мл вносят 200 мл не фильтрованной суточной мочи, к которой небольшими порциями прибавляют 25 мл концентрированной серной кислоты, а затем малыми порциями прибавляют 7 г перманганата калия. Содержимое колбы оставляют на 40 мин при комнатной температуре периодически взбалтывая, затем в колбу небольшими порциями прибавляют насыщенный раствор щавелевой кислоты до исчезновения окраски перманганата калия. Полученный деструктат используют для обнаружения и количественного определения ртути.

Этот способ деструкции белковых веществ в моче более быстрый, чем описанный выше.

4.20.3. Деструкция органических веществ в крови. Для этой цели применяют методику, которая используется для деструкции органов трупов (см. выше), с той лишь разницей, что к пробе крови не прибавляют воду. На исследование берут по 50—100 мл крови.

4.20.4. Обнаружение ртути в деструктате

Реакция с дитизоном. Выполнение реакции. Около половины деструктата вносят в делительную воронку, прибавляют 10 мл хлороформа и взбалтывают в течение 1 мин. Хлороформный слой, в который могут переходить различные примеси из деструктата, отбрасывают. Взбалтывание деструктата с новыми порциями хлороформа (по 10 мл) проводится до тех пор, пока не перестанет окрашиваться хлороформный слой. После этого к очищенному от примесей деструктату прибавляют 10 мл 10 %-го раствора сульфата гидроксилamina или 10 мл 10 %-го раствора аскорбиновой кислоты, 5 мл хлороформа, 0,3 мл и 0,01 н. раствора дитизона в хлороформе, который имеет зеленую окраску, и взбалтывают.

Оценка результата. Появление желтой или оранжево-желтой окраски хлороформного слоя указывает на наличие ртути в деструктате.

Реакция со взвесью иодида меди (I) Выполнение реакции. К определенному объему деструктата прибавляют 10 мл взвеси иодида меди (I).

Оценка результата. Появление красного или оранжево-красного осадка указывает на наличие ртути в деструктате.

Приготовление взвеси иодида меди (I). В 100 мл воды растворяют 21,2 г иодида калия. К этому раствору прибавляют 100 мл 16 %-го раствора сульфата меди (II). Образовавшийся осадок иодида меди (I) отстаивают, а затем осторожно сливают жидкость. Осадок несколько раз взбалтывают с водой, затем с 2 н. раствором сульфата натрия и снова с водой. Осадок, отмытый от иода, промывают насыщенным раствором сульфата натрия для коагуляции частичек этого осадка. Жидкость с осадка переносят на бумажный фильтр.

Осадок на фильтре промывают водой, а затем переносят в цилиндр, прибавляют 100 мл воды и взбалтывают. Полученную таким образом суспензию иодида меди (I) сохраняют в склянке из темного стекла.

4.21. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ «МЕТАЛЛИЧЕСКИХ ЯДОВ» В МИНЕРАЛИЗАТАХ

4.21.1. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ РТУТИ

Сущность метода. Более точным и надежным является экстракционно-фотоколориметрический метод количественного определения ртути.

В качестве реактива для экстракционно-фотоколориметрического определения ртути (II) применяют дитизон. В кислой среде при взаимодействии ионов ртути (II) с раствором дитизона в хлороформе или в четыреххлористом углероде образуется однозамещенный дитизонат, имеющий оранжево-желтую окраску ($\lambda_{\text{макс}} = 485 \text{ нм}$). Оптическую плотность однозамещенного дитизоната ртути (II), находящегося в фазе органического растворителя, измеряют при помощи фотоэлектроколориметра или спектрофотометра.

В качестве реактива для экстракционно-фотоколориметрического определения ртути применяют раствор дитизона в четыреххлористом углероде или в хлороформе. Растворимость однозамещенных дитизонатов металлов, как и самого дитизона, в хлороформе примерно на порядок выше, чем растворимость в четыреххлористом углероде.

При экстракционно-фотоколориметрическом определении ртути (II) водный раствор, содержащий эти ионы, необходимо несколько раз взбалтывать с новыми порциями раствора дитизона в четыреххлористом углероде или в хлороформе, а затем определять оптическую плотность объединенных вытяжек. Объединенные вытяжки дитизоната ртути (II) в хлороформе или в четыреххлористом углероде могут содержать и некоторое количество дитизона, непрореагировавшего со ртутью. Для освобождения раствора дитизоната ртути (II) от несвязавшегося дитизона объединенные вытяжки взбалтывают со слабым раствором аммиака или с 0,2 н. раствором гидроксида натрия, а затем с водой. При этом несвязавшийся дитизон переходит в водную фазу.

Перед определением ртути (II) в соответствующих объектах строят калибровочный график, пользуясь перечисленными ниже реактивами и растворами.

РЕАКТИВЫ И РАСТВОРЫ

1. Дитизон. 0,001 %-й раствор в хлороформе или в четыреххлористом углероде (раствор в хлороформе или в четыреххлористом углероде). Дитизон (дифенилтиокарбазон) представляет собой кристаллы в виде топких игол синечерного цвета с фиолетовым оттенком. В воде он практически нерастворим. Легко растворяется в органических растворителях. В растворах дитизон проявляет способность к кето-енольной таутомерии.

Товарный дитизон может содержать примеси дифенилтиокарбадиазона (продукт окисления дитизона), дитизонатов некоторых металлов и других веществ. Окраска этих примесей мешает обнаружению ионов металлов с

помощью дитизона. Поэтому перед приготовлением раствора дитизона его подвергают очистке.

В 150 мл хлороформа или четыреххлористого углерода растворяют 0,2 г дитизона и через 5—10 мин фильтруют. Фильтрат собирают в делительную воронку вместимостью 500 мл, прибавляют 50 мл 3 н. раствора аммиака и взбалтывают. При этом водный слой, содержащий аммонийную соль дитизона, приобретает желтую или оранжевую окраску, а хлороформный слой, в котором содержится дифенилтиокарбадиазон, — коричневую или красно-бурую окраску. Затем от хлороформного слоя отделяют водную фазу и взбалтывают ее с новыми порциями хлороформа до тех пор, пока водный слой не будет иметь неизменяющуюся желтую окраску. После этого отделяют водную фазу и к ней (при охлаждении льдом) прибавляют 2—3 г аскорбиновой кислоты и 4 н. раствор серной кислоты до $pH = 3...4$. Выделившийся при этом дитизон из водной фазы несколько раз экстрагируют хлороформом (по 15 мл). Экстракцию дитизона новыми порциями хлороформа проводят до тех пор, пока последняя хлороформная вытяжка не перестанет окрашиваться в зеленый цвет. После этого хлороформные вытяжки соединяют и доводят их хлороформом до 200 мл. Этот раствор, содержащий 0,1 % дитизона, имеет зеленую окраску. Его сохраняют в холодном месте в склянке из темного стекла. На поверхность хлороформного раствора дитизона наносят слой 0,2 н. раствора серной кислоты толщиной 0,5 см.

2. Серная кислота (2 н. раствор).

3. Аммиак. Разбавленный раствор (к 190 мл дистиллированной воды прибавляют 10 мл 25 %-го аммиака).

4. Хлороформ свежеперегнанный.

5. Стандартный раствор ртути. В мерную колбу вместимостью 1000 мл вносят 0,1080 г оксида ртути (II) (мол. масса 216,61), прибавляют 10 мл воды и 1 мл концентрированной азотной кислоты. После растворения оксида ртути (II) в колбу прибавляют дистиллированную воду до метки. В 1 мл полученного стандартного раствора содержится 100 мкг ртути.

Построение калибровочного графика. В ряд делительных воронок вносят по 1 мл 2 н. раствора серной кислоты и по 4 мл воды. Затем в каждую делительную воронку прибавляют разные объемы стандартного раствора (0,05; 0,1; 0,3; 0,5; 0,7; 0,9; 1,0; 1,1 мл) и по 3 мл раствора дитизона в хлороформе. Содержимое делительных воронок взбалтывают в течение 2 мин и оставляют делительные воронки на такое же время для разделения фаз. После этого в колбы вместимостью 50 мл отделяют хлороформный слой из каждой делительной воронки. Взбалтывание водной фазы с новыми порциями хлороформного раствора дитизона (по 3 мл) производят до тех пор, пока не перестанет изменяться зеленая окраска прибавленного раствора дитизона. Объединенные

хлороформные вытяжки, содержащие дитизонат ртути, переносят в делительные воронки, в которые прибавляют по 10 мл разбавленного раствора аммиака, и взбалтывают в течение 3 мин. Затем из каждой делительной воронки отделяют водную фазу, а хлороформный слой взбалтывают с 10 мл воды в течение 3 мин. Промытые аммиаком и водой хлороформные вытяжки отделяют от водной фазы и переносят в мерные колбы вместимостью 50 мл. Объемы объединенных хлороформных вытяжек в этих колбах доводят хлороформом до метки. Оптическую плотность полученных хлороформных вытяжек измеряют фотоэлектроколориметром ФЭК-56М в кювете с толщиной слоя жидкости 10 мм, пользуясь зеленым светофильтром, эффективная длина волны которого равна 490 ± 10 нм. В качестве раствора сравнения применяют хлороформ.

На основании результатов измерений оптической плотности дитизоната ртути строят калибровочный график. Светопоглощение окрашенных растворов подчиняется закону Бера в пределах от 10 до 90 мкг ртути в 50 мл конечного объема. Предел определения: 10 мкг ртути в указанном конечном объеме.

4.21.2.1. Определение ртути в деструктате. Для определения ртути в делительную воронку вносят 10 мл деструктата, прибавляют 1 мл 2 н. раствора серной кислоты, 4 мл воды, 5 мл 10 %-го раствора аскорбиновой кислоты и 3 мл 0,001 %-го хлороформного раствора дитизона. Содержимое делительной воронки взбалтывают в течение 2 мин и оставляют делительную воронку на такое же время для разделения фаз, а затем в колбу вместимостью 50 мл отделяют фазу органического растворителя. Водную фазу, оставшуюся в делительной воронке, взбалтывают с новыми порциями 0,001 %-го хлороформного раствора дитизона (по 3 мл) до тех пор, пока не перестанет изменяться зеленая окраска прибавленного хлороформного раствора дитизона. Объединенные хлороформные вытяжки переносят в делительную воронку, в которую прибавляют 10 мл разбавленного раствора аммиака и взбалтывают в течение 3 мин, а далее поступают, как указано при описании способа построения калибровочного графика.

Расчет содержания ртути в биологическом материале производят по калибровочному графику, пользуясь формулой

$$X = \frac{AB \cdot 100}{BG}$$

где X — содержание ртути в 100 г биологического материала, мкг; А — количество ртути, найденное по калибровочному графику, мкг; Б — объем деструктата, взятый для определения ртути, мл; В — общий объем деструктата, мл; Г — масса биологического материала, взятого на анализ, г.

В тех случаях, когда оптическая плотность окрашенного раствора дитизоната ртути во взятой пробе деструктата выходит за пределы калибровочного

графика, тогда необходимо повторить опыт, взяв для количественного определения меньший объем деструктата.

Разбавление хлороформом окрашенного раствора, оптическая плотность которого выходит за пределы калибровочного графика, может быть причиной получения неправильного результата количественного определения ртути в деструктате.

4.21.2. ЭКСТРАКЦИОННО-ФОТОКОЛОРИМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕДИ

Сущность метода. Экстракционно-фотоколориметрический метод определения меди основан на реакции ионов этого металла с диэтилдитиокарбаматами. При этой реакции образуется диэтилдитиокарбамат меди, раствор которого в хлороформе или в четыреххлористом углероде имеет бурую или желто-коричневую окраску ($\lambda_{\text{макс}} = 437 \text{ нм}$). В качестве реактива для определения меди применяют диэтилдитиокарбамат свинца, который растворяется в органических растворителях, не разлагается в кислой среде и дает окраску с меньшим числом ионов, чем диэтилдитиокарбамат натрия. Определению меди с диэтилдитиокарбаматом свинца мешают только ионы ртути (II), алюминия, висмута и таллия (IV), комплексы которых с диэтилдитиокарбаматом более прочные, чем комплекс свинца с этим реактивом.

Во время фотоколориметрического определения меди окрашенные растворы необходимо защищать от прямого солнечного света, под влиянием которого может изменяться окраска диэтилдитиокарбамата меди.

Для экстракционно-фотоколориметрического определения меди необходимо построить калибровочный график, пользуясь перечисленными ниже реактивами и растворами.

РЕАКТИВЫ И РАСТВОРЫ

1. Хлороформный раствор диэтилдитиокарбамата свинца (см. Приложение 1, реактив 14).

2. Кислота серная (2 н. раствор).

3. Хлороформ свежеперегнанный.

4. Стандартный раствор меди. В мерную колбу вместимостью 1000 мл вносят 3,9280 г сульфата меди ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, мол. масса 249,68), прибавляют 30 мл воды и 1 мл концентрированной серной кислоты. После растворения сульфата меди прибавляют дистиллированную воду до метки. 100 мл этого раствора вносят в другую мерную колбу вместимостью 1000 мл и прибавляют дистиллированную воду до метки. В 1 мл полученного стандартного раствора содержится 0,1 мг (100 мкг) меди.

Построение калибровочного графика. В делительные воронки вносят по 0,05; 0,1; 0,3; 0,5; 0,8; 1,0; 1,2 и 1,4 мл стандартного раствора. Во все делительные воронки прибавляют по 0,5 мл 2 н. раствора серной кислоты и воду до 10 мл. Затем во все делительные воронки прибавляют по 5 мл хлороформного раствора диэтилдитиокарбамата свинца. Содержимое делительных воронок взбалтывают по 3 мин и оставляют на такое же время для разделения фаз. После этого из каждой делительной воронки в колбы отделяют хлороформную

фазу. Водную фазу в делительных воронках еще раз взбалтывают с 5 мл хлороформного раствора диэтилдитиокарбамата свинца. Хлороформную фазу отделяют от водной фазы и присоединяют к ранее полученной хлороформной фазе. Объединенную хлороформную фазу взбалтывают с 5 мл воды. Хлороформную фазу переносят в градуированную пробирку и прибавляют хлороформ до 10 мл.

Оптическую плотность каждой хлороформной вытяжки, окрашенной в желто-коричневый цвет, измеряют фотоэлектроколориметром (кювета 5 мм, светофильтр — синий, $\lambda_{\text{эфф}} = 440 \pm 10$ нм). В качестве раствора сравнения применяют хлороформ.

На основе результатов измерения оптической плотности строят калибровочный график. Светопоглощение окрашенных растворов подчиняется закону Бера в пределах от 0,05 до 0,12 мг меди в 10 мл конечного объема. Предел определения 0,05 мг меди в указанном конечном объеме.

4.21.2.1. Определение меди в минерализате. 10 мл минерализата, доведенного до $\text{pH} = 3$, вносят в делительную воронку, прибавляют 5 мл хлороформного раствора диэтилдитиокарбамата свинца. Содержимое делительной воронки взбалтывают в течение 3 мин и оставляют на такое же время для разделения фаз. Хлороформную фазу отделяют, а водную, оставшуюся в делительной воронке, еще раз взбалтывают с 5 мл хлороформного раствора диэтилдитиокарбамата свинца. Хлороформную фазу отделяют от водной фазы и присоединяют к ранее полученной хлороформной фазе, а далее поступают так, как указано выше при описании способа построения калибровочного графика.

Содержание меди во взятом на исследование объеме минерализата рассчитывают по калибровочному графику.

4.21.3. Количественное определение кадмия.

Методика. К 40-50 мл минерализата добавляют 20 мл 10% раствора калия, натрия-виннокислого, 10 мл раствора глицерина (1:10), жидкость нейтрализуют 30% раствором гидроокиси натрия (калия), в присутствии 1-2 капель нильского голубого до появления розового окрашивания добавляют 5 мл избытка щелочи, 10-мл 1% раствора ДДТК натрия (диэтилдитиокарбамат, 1% раствор в смеси этилового или метилового спирта с водой 1:3) и 10-15 мл хлороформа. Теплый раствор энергично встряхивают в течение 30 сек. Хлороформный экстракт отделяют. Экстракцию повторяют 2-3 раза. Хлороформный экстракт объединяют и промывают водой. Промывные воды присоединяют к водной фракции, в которой определяют цинк. Хлороформные экстракты энергично встряхивают с 10 мл 1 н раствора соляной кислоты в течение 60 сек. Водный слой отделяют и реэкстракцию повторяют 2 раза (по 30 сек). Реэкстракты объединяют и после промывания их 2-3мл хлороформа переносят в коническую колбу емкостью 300 мл, добавляют воду до 150-180 мл и 1 мл 20% раствора лимонной кислоты. Жидкость нейтрализуют по нильскому голубому до появления розовой окраски, а затем добавляют 10 % раствор серной кислоты до

pH 8,0 (по УИБ), добавляют 2 мл аммиачного буферного раствора и титруют 0,01 н раствором трилона Б в присутствии хромогена черного ET-00 (или эриохрома синего) до перехода фиолетовой окраски в голубую. 1 мл 0,01н раствора трилона Б соответствует содержанию 0,56 мг кадмия.

Формула расчета:

$$X = V \cdot K \cdot 0,56 \cdot 200 \cdot 100 / V_1 \cdot n;$$

где

X-количество кадмия в мг в 100 г органа,

V —объем 0,01н раствора трилона Б,

V₁ —объем минерализата, взятого для определения, в мл,

K-поправка к 0,01н раствору трилона Б,

n- навеска орган в граммах

В органах трупа человека 10 мг добавленного кадмия определяется в среднем: 96% в печени, 97% в почках, со средней ошибкой соответственно 2,8-4,9%.

4.21.4. Количественное определение иона марганца.

Количественное содержание марганца производят периодатным методом, т.к. окраска перманганат- иона устойчива до 30 дней.

Для получения надежных результатов анализа необходимо соблюдать оптимальные условия окисления марганца: кислотность-от 0,5 до 5%, количество периодата калия или натрия-0,2г, а персульфата аммония-0,5г время нагревания в случае окисления периодатом – 20 минут (а при окислении персульфатом-до полного разложения избытка персульфата).

Методика окисления периодатом: отмеривают пипеткой в колориметрическую пробирку 1 мл минерализата, добавляют 4 мл воды, 1 мл насыщенного раствора однозамещенного фосфата натрия, 0,2 г периодата калия или натрия и нагревают в кипящей водяной бане в течение 20 минут. В присутствии марганца появляется окраска от розового до красно-фиолетового цвета.

Окраску перманганат-иона используют для измерения её плотности.

Для этого в зависимости от интенсивности окраски окисленный раствор разбавляют водой до 10 мл и более.

Измеряют плотность окраски раствора, не содержащего осадка при 465 нм в кювете с толщиной поглощающего слоя 10 мм. Раствором сравнения служит контрольный минерализат.

Калибровочный график строят по точным растворам перманганата калия. В пределах 0,0001-0,01 мг в 1мл с интервалом или 0,0002, или 0.002 мг/мл в зависимости от крепости раствора полученного при качественном определении.

Растворы перманганат-иона подчиняются закону Ламберта-Бера при концентрации марганца от 0,0001 до 0,03 мг/мл.

Количества марганца от 1 до 10 мг в 100 г органа определяются в пределах 98-100% (средняя относительная ошибка от 1,4 до 4,4%)

соответствует содержанию 0,56 мг кадмия.

Формула расчета:

$$X = C \cdot V_1 \cdot V_2 \cdot 100 / n;$$

где

X-количество кадмия в мг в 100 г органа,

V_1 – объем колориметрируемого раствора перманганат-иона в мл, полученный после окисления 1 мл минерализата и разбавления;

V_2 – общий объем минерализата в мл,

C – содержание марганца в мг в 1 мл;

n – навеска орган в граммах

4.22. Атомно-абсорбционная спектроскопия в химико-токсикологическом исследовании металлических ядов.

Принцип действия атомно-абсорбционного спектрометра – измерение величины поглощения луча света определенной (резонансной) длины волны от источника, проходящего через атомный пар исследуемой пробы.

Принцип метода: через слой атомных паров пробы, получаемых с помощью атомизатора, пропускают просвечивающее излучение в диапазоне 190–900 нм. В результате поглощения квантов света (фотонное поглощение) атомы переходят в возбужденные энергетические состояния. Этим переходам в атомных спектрах соответствуют резонансные линии, характерные для данного элемента. Мера концентрации элемента: оптическая плотность или атомное поглощение: $A = \lg(I_0/I) = KLC$ (закон Бугера-Ламберта-Бера) где I_0 и I – интенсивности излучения от источника соответственно до и после прохождения через поглощающий слой атомного пара; K – коэффициент пропорциональности (коэф-нт вероятности эл. перехода); L – толщина поглощающего слоя атомного пара; C – концентрация определяемого элемента

Чувствительность ААС:

Пределы обнаружения большинства элементов в растворах при атомизации:

В пламени 1–100 мкг/л, в графитовой печи 0,001–1 мкг/л (абсолютные пределы обнаружения 0,1–100 пг)

Относительное стандартное отклонение (повторяемость и воспроизводимость) в оптимальных условиях измерений: 0,2–0,5 % для пламени и 0,5–1,0 % для печи.

4.22.1. Подготовка биологических проб для ААС с использованием микроволновой модульной системы «Multiwave3000» См. Приложение 2.

Параллельно проводится подготовка контрольных проб в качестве образца сравнения и контроля чистоты реактивов. Полученные минерализаты собираются в мерные колбы на 50 мл, сосуд и крышку сосуда тщательно промывают дистиллированной водой, промывные воды добавляют к минерализатам и общие объемы доводят до 50 мл дистиллированной водой.

Условия проведения атомно-адсорбционного анализа: Прибор. Атомно-абсорбционный спектрометр с источником непрерывного спектра; измерение абсорбции первичного излучения анализируемых атомов в их основном состоянии, однолучевой лампой: Ксеноновая коротко-дуговая лампа с УФ дугой в режиме горячего пятна, автоматическое отслеживание горячего пятна; Оптическая система: Отражающий оптический инструмент с защитным покрытием и оптической системой в светопрочном корпусе. Диапазон длины волны: 190–900 нм. Детектор: CCD – матричный детектор с высокой квантовой эффективностью и повышенной УФ чувствительностью. Тип пламени:

ацетилен\воздух – одноцелевая горелка 50мм, кодированная Топливный газ-ацетилен. Давление всасывания от 80 до 150 кПа. Расход от 40 до 315 NL\ч. Распылитель – пневматический концентрический струйный. Расход от 4 до 7мл\мин. Программное обеспечение. Концентрация диапазон значений пятиточечный от 0,001 до 99999, абсорбция от 0 до 3.99 Полученные растворы сравнения и растворы минерализатов поочередно распыляют в пламя, выбирая наиболее чувствительную длину волны для каждого искомого иона. Длина волны для определения меди 324,754нм, свинца 217, 000 нм, висмута 223, 0607 нм, кадмия 228,8017 нм, ионов серебра 328,0680нм, ионов марганца 279,4816нм, ионов талия 377,5720, ионов хрома 357,8687нм, ионов сурьмы 206,8330нм, ионов мышьяка 193,6956нм, для ионов цинка 213,8570 нм.

5. Заключение.

Технология химико-токсикологического исследования должна базироваться на использовании комплекса методов, включающего последовательно выполняемые этапы химико-токсикологического анализа от проведения выделения искомого вещества из биологических объектов и предварительного скрининга до идентификации и количественного определения веществ с применением специфичных методов.

Выбор того или иного метода при проведении химико-токсикологического анализа зависит от свойств искомого вещества, состояния и количества представленных объектов, задач исследования, экономических возможностей и оснащённости лаборатории.

Описанная процедура является сводом методик используемых в химико-токсикологическом исследовании на данную группу веществ и предназначена для идентификации и количественного определения соответствующих веществ в биологических объектах и объектов не биологического происхождения .

6. Список использованных источников.

1. Крамаренко В. Ф. Химико-токсикологический анализ.— К: Виша шк. Головное изд-во, 1982 г., МУ МЗ СССР.
2. Методические указания по определению «металлических ядов», МЗ ССР изд. М, 1966 г.
3. Atomic absorption spectroscopy.jpg
4. МИКРОВОЛНОВАЯ СИСТЕМА MULTIWAVE 3000 (ANTON PAAR), Руководство от производителя оборудования.
5. Атомно-абсорбционные спектрометры серии ContrAA, Руководство от производителя оборудования. © АО «НеваЛаб» 2016

Количества некоторых металлов содержатся в организме как нормальная составная часть клеток и тканей

Микро элементы	Печень	Почка	Селезенка	Легкие	Сердечная мышца	Скелетная мышца	Головной мозг
Содержание микроэлементов в %							
Кадмий	0,64- 5,68	1,32- 8,48					
Кобальт	0,025						
Марганец	0,17- 0,20	0,06	0,022- 0,032	0,022	0,021- 0,032	0,05	0,028- 0,03
Медь	0,71	0,116- 0,35	0,12-0,24	0,11	0,19	0,125	0,22-0,46
Мышьяк	0,011		0,002	0,009	0,01		
Олово	0,06	0,02	0,022	0,045	0,022	0,011	
Ртуть	0,002	0,002					
Свинец	0,13	0,027	0,03	0,028	0,038	0,01	0,013
Серебро	0,005						
Хром	0,001- 0,013	0,027- 0,028	0,0005- 0,01	0,0007	0,01	0,0002	0,002
Цинк	5,4-14,5	5,5	1,1	0,65	1,4	3-5,15	0,8-1,5

Примечание. Данные приведены по Н.В.Семёнову (1971г), по содержанию кадмия и серебра по А.Н.Крыловой (1975г)

Условия подготовки проб биологического материала с применением МИКРОВОЛНОВОЙ СИСТЕМЫ «MULTIWAVE 3000 (ANTON PAAR)»

Liver-(печень) на 4 ячейки

Weight-(вес, навеска)-0,300g

Reagents (ml)-реагенты (мл):

HNO₃ 6.0ml + HCL 1.0ml

Ph	Power (мощность)	Ramp (скат, наклонная мощность)	Hold (удерживание)	Fan (вентилятор)
1	1400	10:00	30:00	1
2	0		15:00	3

p-Rate (ТЕМП): 0.5bar/s IR(инфракрасный):240⁰С p:60 bar

Notes (примечание): Reduce the pressure increase rate to 0.3bar/s (уменьшить темп увеличения давления до 0,3bar/s).

Meat (мясо) на 4 ячейки

Weight (вес, навеска)-0,500g

Reagents (ml) реагенты (мл):

HNO₃ 4.0ml + H₂O₂ 2.0ml

Ph	Power (мощность)	Ramp (скат, наклонная мощность)	Hold (удерживание)	Fan (вентилятор)
1	800	15:00	30:00	1
2	0		15:00	3

p-Rate (ТЕМП): 0.5bar/s IR(инфракрасный):240⁰С p:60 bar

Notes (примечание): Reduce the pressure increase rate to 0.3bar/s (уменьшить темп увеличения давления до 0,3bar/s).

Blood (кровь) на 4 ячейки

Weight (вес, навеска)-0,800g

Reagents (ml) реагенты (мл):

HNO₃ 6.0ml

Ph	Power (мощность)	Ramp (скат, наклонная мощность)	Hold (удерживание)	Fan (вентилятор)
1	1000	30:00	15:00	1
2	0		15:00	3

p-Rate (ТЕМП): 0.5bar/s IR(инфракрасный):240⁰C p:60 bar

Hair(волосы) на 8 ячейки

Weight (вес, навеска)-0,500g

Reagents (ml) реагенты (мл):

HNO₃ 5.0ml + H₂O₂ 2.0ml + HCL 1.0ml

Ph	Power (мощность)	Ramp (скат, наклонная мощность)	Hold (удерживание)	Fan (вентилятор)
1	1400	10:00	20:00	1
2	0		15:00	3

p-Rate (ТЕМП): 0.5bar/s IR(инфракрасный):240⁰C p:60 bar